

**發明專利說明書**

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號： 9 2 1 2 5 5 0 0

※ 申請日期：92 9 16 ※IPC 分類：C07D487/22  
A61P25/0013/18

**壹、發明名稱：**(中文/英文)

誘導癌細胞凋亡及抑制人類免疫缺乏病毒-1 反轉錄酶之醫藥組合物  
PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS FOR INDUCTION OF  
APOPTOSIS OF CANCER CELLS AND INHIBITION OF REVERSE  
TRANSCRIPTASE OF HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS-1

**貳、申請人：**(共 1 人)

**姓名或名稱：**(中文/英文)

香港大學

THE UNIVERSITY OF HONG KONG

**代表人：**(中文/英文)

余寒生

HAILSON YU

**住居所或營業所地址：**(中文/英文)

香港薄扶林道艾利歐館 G18

G18, ELIOT HALL, POKFULAM ROAD, HONG KONG SPECIAL  
ADMINISTRATIVE REGION, P. R. OF CHINA

**國 籍：**(中文/英文)

香港 HONG KONG

**參、發明人：**(共 1 人)

**姓 名：**(中文/英文)

支志明

CHE, CHIMING

**住居所地址：**(中文/英文)

中國大陸香港薄扶林道香港大學化學系

DEPT. OF CHEMISTRY, THE UNIVERSITY OF HONG KONG,  
POKFULAM ROAD, HONG KONG SPECIAL ADMINISTRATIVE  
REGION, P. R. OF CHINA

**國 籍：**(中文/英文)

中國 PEOPLE'S REPUBLIC OF CHINA

**肆、聲明事項：**

本案係符合專利法第二十條第一項  第一款但書或  第二款但書規定之期間，其日期為： 年 月 日。

本案申請前已向下列國家（地區）申請專利：

1. 美國；2002年09月16日；60/411,423
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

主張國際優先權(專利法第二十四條)：

【格式請依：受理國家（地區）；申請日；申請案號數 順序註記】

1. 美國；2002年09月16日；60/411,423
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

主張國內優先權(專利法第二十五條之一)：

【格式請依：申請日；申請案號數 順序註記】

- 1.
- 2.

主張專利法第二十六條微生物：

國內微生物 【格式請依：寄存機構；日期；號碼 順序註記】

國外微生物 【格式請依：寄存國名；機構；日期；號碼 順序註記】

熟習該項技術者易於獲得，不須寄存。

## 玖、發明說明：

本案請求美國臨時專利申請案第60/411,423號，申請日2002年9月16日之權益，該案全文揭示以引用方式併入此處。

### 【發明所屬之技術領域】

本發明係有關金(III)錯合物用作為抗腫瘤劑及抗HIV劑之用途。

### 【先前技術】

西鉑汀(cisplatin)成功地用作為抗腫瘤藥物刺激人們對於使用金屬錯合物作為新穎治療劑、診斷劑以及放射性藥劑之相當大興趣(參考化學綜論99：全發行(1999))。有鑑於西鉑汀抗藥性癌症種系的出現以及西鉑汀的嚴重毒性，全球有多個研究小組積極從事研究開發新穎以金屬為主之藥物，該藥物之毒性副作用較低且可克服藥物抗藥性問題(參考Clarke等人，生物無機化學話題：金屬藥物I，DNA交互作用，史賓哲(Springer)，柏林1999年)。

金化合物長久以來用作為類風濕性關節炎的藥劑；令人注目的範例包括奧拉諾芬(auranofin)及麥歐克新(myocrysin)(參考Shaw, III, 化學、生物化學及技術之金之進展；Schmidbaur, H.編輯；威利公司：紐約，1999，259)。Lorber及其同仁於1979年發現奧拉諾芬可抑制培養中之HeLa細胞增生，激起眾人對金化合物之藥理潛力產生廣泛興趣(參考Simon等人，癌症44：1965(1979))；1980年代有一系列奧拉諾芬衍生物以及二苯基膦基金(I)錯合物接受徹底評估其用

於試管試驗以及活體試驗之抗腫瘤活性(參考Shaw, III, 無機化學於醫藥之應用, Farrell, N. P. 編輯, 1999, 皇家化學會: 劍橋, 第3章, 第27頁)。不幸, 此等金(I)錯合物於動物研究具有嚴重心臟毒性, 因而造成金(I)錯合物不適合臨床應用(例如參考Hoke等人, 毒理應用藥理學 100:293 (1989); 及Tiekink, 腫瘤學/血液學之關鍵綜論, 42: 225-248 (2002))。

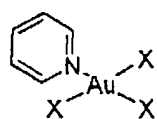
金(III)離子與鉑(II)有相等結構以及相等電子, 金(III)離子形成正方平面錯合物, 因此長久以來預期金(III)離子是一種有展望之抗腫瘤劑。參考Pieper等人, 生物無機化學話題: 金屬藥物 I, DNA交互作用, Clarke, M. J.; Sadler, P. J. 編輯; 史賓哲: 柏林, 1999; 171-199頁。與金(I)錯合物之生物性質有徹底報告相反, 參考文獻中極少見金(III)錯合物之抗腫瘤劑性質及細胞毒性之研究。發展抗腫瘤金(III)化合物之主要問題在於金(III)錯合物具有高氧化還原電位, 金(III)錯合物於生理緩衝液內容易進行還原反應, 還原成為金(I)以及膠體金。

至今為止, 已經有兩大類抗腫瘤金(III)錯合物(顯示於反應圖1)經過徹底研究。第I類化合物涵蓋含有一、二、或三個不穩定性配位體(例如-鹵化物、-SCN)以及一-/二-/三-配位基輔助配位體。至於第II類化合物, 不含不穩定性配位體之四個共價鍵鍵結至金(III)原子配位至某些螯合多胺配位體。根據參考文獻, 全部此等金(III)化合物於生理緩衝液內之穩定性有限; 特別容易被溫和還原劑(例如硫代硫酸鈉

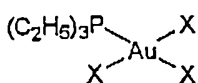
及麩胱甘肽)所還原而產生膠體金(參考Messori等人, 醫藥化學期刊。43: 3541(2000))。根據發明人的了解, 製備於生理相關條件下穩定之強力抗腫瘤金(III)化合物之成功有限。反應圖1顯示選定之參考文獻之抗腫瘤金(III)錯合物範例, 此處X = I<sup>-</sup>、Br<sup>-</sup>、Cl<sup>-</sup>、SCN<sup>-</sup>或CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub><sup>-</sup>。

## 反應圖 1

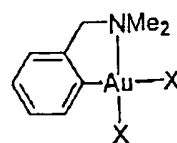
## 第 I 類



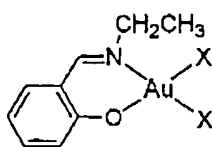
Miraelli, C.K.及其同仁, 生物藥理學 1986, 35, 1427



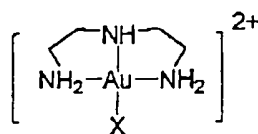
Dabrowiak, J.C.及其同仁, 美國化學會期刊 1987, 109, 3810



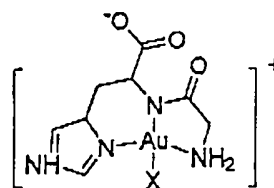
Parish, R.V.及其同仁, 無機化學 1996, 35, 1659



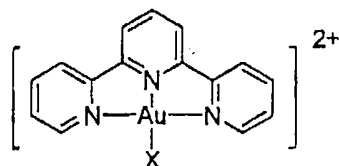
Orioll, P.及其同仁, 無機化學期刊 1999, 285, 309



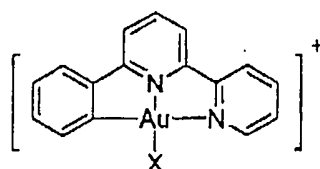
Orioll, P.及其同仁, 無機化學期刊 1998, 281, 90



Orioll, P.及其同仁, 化學-生物交互作用 2000, 125, 29

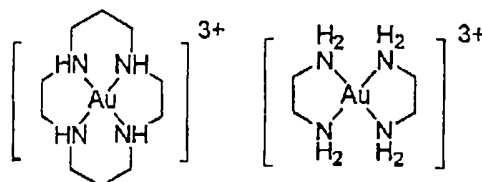


Lippard, S.J.及其同仁, 美國化學會期刊 1983, 105, 4293



Chen, C.M.及其同仁, 美國化學會期刊, 化學通訊 1995, 17, 1787

## 第 II 類



Orioli, P.及其同仁, 醫藥化學期刊 2000, 43, 3541

Fleischer等人，無機核子化學函件5：373(1969)首次報告 $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{TPP})]\text{AuCl}_4$ 之合成。也參考Falk, J. E., 吡咯紫質及金屬吡咯紫質；艾塞維爾(Elsevier)：阿姆斯特丹1964年。Jamin等人，無機化學期刊27：135(1978)揭示其它包括 $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{間吡咯紫質IX})]\text{AuCl}_4$ 之金(III)吡咯紫質衍生物；以及Abou-Gamra等人，化學會期刊，法拉弟會刊，2，82：2337(1986)揭示 $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{間-肆(N-甲基-4-吡啶基)吡咯紫質})\text{Cl}_5$ 。此等程序用於製備該項研究工作報告之金(III)吡咯紫質錯合物。Abou-Gamra等人，化學會期刊，法拉弟會刊，2，82：2337(1986)揭示金(III)吡咯紫質於水性介質之電化學；而Jamin等人，無機化學期刊27：135(1978)揭示金(III)吡咯紫質於非水性介質之電化學。據報告金(III)吡咯紫質可進行以吡咯紫質為中心之氧化還原反應，而不會還原金(III)中心。但金(III)吡咯紫質錯合物之生物性質，特別是抗腫瘤性質以及細胞毒性性質於該參考文獻全然未知。

金屬吡咯紫質是一類重要的分子，構成具有多種生物功能之多種蛋白質的活性位置，該等生物功能包括雙氧的運送與儲存(血色素、肌球蛋白)、雙氧的活化(胞色素P-450)、電子的運送(胞色素c、胞色素氧化酶)以及能量的轉換(葉綠素)(參考Milgrom, L. R., 生命的色彩；牛津大學出版社：紐約，1997年；及Kadish, K. M.等人；吡咯紫質手冊；編輯；學術出版社：聖地牙哥，2000年)。由Fiel及Pasterneck打前鋒開始，金屬吡咯紫質與DNA的交互作用已經變成廣泛研究的主題。金屬吡咯紫質被用作為核酸結構以及動力學的

探針(參考Bennett等人, 美國國家科學院議事錄97: 9476 (2000); Gúliaev等人, 生物化學38: 15425(1999); Lipscomb等人, 生物化學35: 2818(1996); 及Marzilli等人, 美國化學會期刊114: 7575(1992))以及作為DNA足跡分析試劑(參考Mestre等人, 生物化學1996, 35: 9140(1996))。吡咯紫質及其衍生物已經用於光動力學癌症治療; 但少數吡咯紫質及其金屬錯合物已知即使未經光活化也可能對人類細胞/組織產生顯著細胞毒性效應。參考Hill等人, 美國國家科學院議事錄92: 12126 (1995)以及國際公告案第WO 00/12512 A1號。晚近, Hurley及其同仁發現某些陽離子性間-肆(N-甲基吡啶基)吡咯紫質可穩定G四倍體DNA, 且用於抗癌治療作為人類端粒酶的潛在抑制劑(參考Han等人, 美國化學會期刊121: 3561-3570(1999))。但並無任何證據顯示根據Hurley的報告, 此等吡咯紫質將誘生癌細胞死亡。

人類免疫缺乏病毒第1型(HIV-1)反轉錄酶(RT)是臨床上治療後天免疫缺乏症候群(愛滋病)的重要藥物目標(參考Mitsuya等人, 科學249: 1533(1990))。臨床上使用之HIV-1反轉錄酶抑制劑有兩大類: (1)核苷反轉錄酶抑制劑[NRTIs, 例如3'-疊氮基-2',3'-二去氧基胸苷(AZT)、2',3'-二去氧基肌苷(ddI)及2'-去氧基-3'-硫雜胞苷(3TC)], 以及(2)非核苷反轉錄酶抑制劑(NNRTIs, 例如內維拉平(nevirapine)、德拉沃定(delavirdine)及艾伐維蘭(efavirenz))(參考抗愛滋病藥物發展: 挑戰、策略與展望, P. Mohan及M. Baba編輯1995年, 第11章, 第239頁)。NRTIs結合至正常去氧基核苷



三磷酸(dNTP)酶基質結合位置，經由結束DNA的鏈延長而抑制HIV的複製(參考Jacob-Molina等人，美國國家科學院議事錄90：6320(1991)；以及Huang等人，科學282：1669(1998))。NNRTIs相信係經由結合至接近聚合酶活性位置的一個獨特位置而抑制聚合反應化學步驟。雖然目前化學治療方法通常係涉及NRTIs與NNRTIs二者的組合，俾延遲抗藥性的出現，但已經有負面影響報告，包括藥物毒性、產生多重抗藥性表現型以及存在有潛在病毒儲藏所(參考Cohen，科學277：32(1997))。

某些合成金屬吡咯紫質據報告於試管試驗可抑制HIV-1反轉錄酶活性(參考Paterson等人，生物化學期刊274：1549(1999)；及Staudinger等人，美國物理學會議事錄108：47(1996))。

四配位基席夫鹼及雙(吡啶基)羧醯胺配位體據報告可與金(III)離子形成錯合物。參考Barnholtz等人，無機化學40：972(2001)；Dar等人，化學會期刊，道爾頓會刊1907(1992)；Banerjee等人，工業化學期刊23A：555(1984)；Murray等人，有機金屬化學期刊，61：451(1973)；及Inazu，日本化學會公報39：1065(1966)。但此等錯合物之抗腫瘤性質及細胞毒性大半仍未經探索。

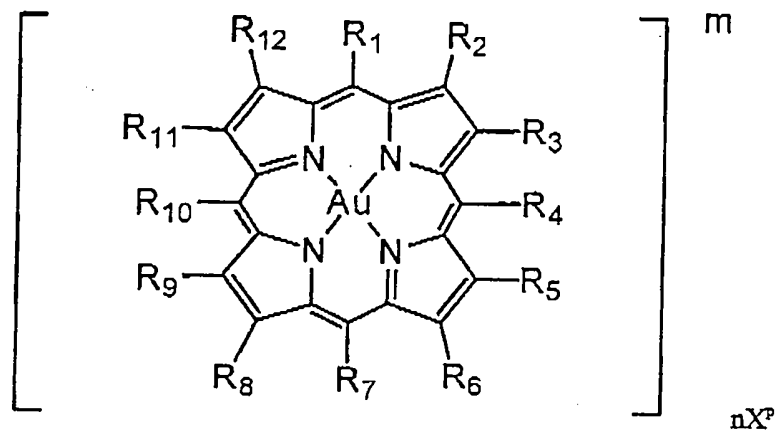
仍然需要有效抗癌劑及抗HIV劑。

本案本節引述任何參考文獻絕非表示承認該參考文獻為本案的先前技術。

## 【發明內容】

本發明係有關使用金(III)吡咯紫質錯合物、金(III)席夫鹼錯合物及金(III)羧醯胺錯合物("金(III)錯合物")用作為抗腫瘤劑及抗HIV劑之方法。

一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(I)金(III)錯合物：



(I)

或其醫藥上可接受之鹽，其中：

$R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-H、-鹵原子、 $-(C_1-C_6)$ 烷基或 $-O(C_1-C_6)$ 烷基、-(6-員)芳基或-(5至10-員)雜芳基，其各自經以一或多個-鹵原子、 $-(C_1-C_6)$ 烷基、 $-O(C_1-C_6)$ 烷基、 $-OSO_2$ 或 $-NO_2$ 取代；

$R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H、 $-(C_1-C_6)$ 烷基其可以一或多個 $-C(O)OR_{13}$ 、-鹵原子或=O基團取代；

$R_{13}$ 為 $-(C_1-C_6)$ 烷基；

各個 $X^p$ 分別為醫藥上可接受之抗衡離子；

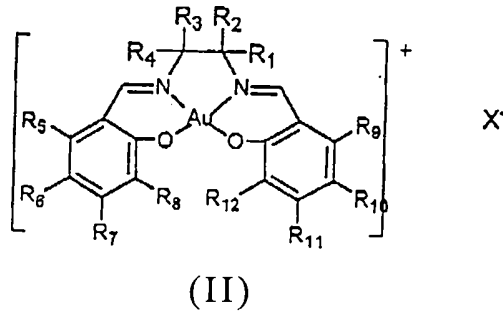
$m$ 為-3至5之整數；

p為-3至3之整數；

n係等於m/p之絕對值；以及

一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(II)金(III)錯合物：



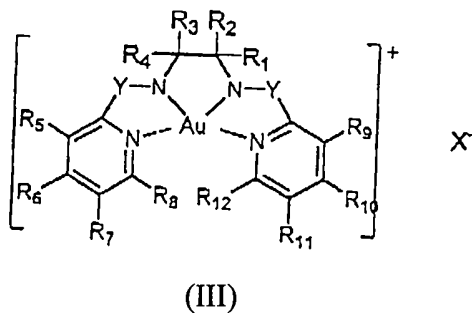
或其醫藥上可接受之鹽，其中：

$R_1$ - $R_{12}$ 各自分別為-H、-鹵原子、-( $C_1$ - $C_6$ )烷基或-O( $C_1$ - $C_6$ )烷基其可經以一或多個-O( $C_1$ - $C_6$ )烷基或-鹵原子取代；

X為抗衡陰離子；以及

一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(III)金(III)錯合物：



或其醫藥上可接受之鹽，其中：

(a)  $R_1$ - $R_{12}$ 各自分別為-H、-鹵原子、 $-(C_1-C_6)$ 烷基或 $-O(C_6)$ 烷基其可經以一或多個 $-O(C_1-C_6)$ 烷基或-鹵原子取代；或

(b)  $R_1$ 及 $R_4$ 為不存在；以及 $R_2$ 及 $R_3$ 共同形成一個下式6-員芳基環



Y為  $X = -\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-$  或  $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{S}}-$  ；

$R_{13}$ 及 $R_{14}$ 各自分別為-H或-鹵原子；

X為抗衡陰離子；以及

一種醫藥上可接受之載劑。

本發明係有關抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法。

一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人有效量之一種式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人有效量之一種式(II)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人有效量之一種式(III)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中以及一種醫藥上可接受之載劑。

本發明亦係關於一種包含本發明之金(III)錯合物及醫藥上可接受之載劑之醫藥組合物。

一具體實施例中，本發明係有關一種醫藥組合物，包含有效量之一種式(I)錯合物以及一種醫藥上可接受之載劑。

一具體實施例中，本發明係有關一種醫藥組合物，包含有效量之一種式(II)錯合物以及一種醫藥上可接受之載劑。

一具體實施例中，本發明係有關一種醫藥組合物，包含有效量之一種式(III)錯合物以及一種醫藥上可接受之載劑。

#### 【實施方式】

本發明係有關金(III)錯合物用作為抗腫瘤劑及抗HIV劑之用途。

熟諳技藝人士了解配位體與陽離子性金屬中心無法形成電荷中性錯合物。舉例言之，陽離子性金屬之淨正電荷可能大於去質子化巨環配位體之絕對淨負電荷；或陽離子性金屬之淨正電荷可能小於去質子化巨環配位體之絕對淨負電荷。此種情況下，一或多個抗衡離子將存在來維持配位體與金屬中心間的電荷中性。如此「醫藥上可接受之鹽」一詞用於此處也包括由帶電金屬錯合物與抗衡離子生成之鹽。

用於此處，「抗衡陰離子」一詞表示與帶正電之金(III)錯合物結合之陰離子。抗衡陰離子之非限制性範例包括氟陰離子、氯陰離子、溴陰離子、碘陰離子、硫酸根及磷酸根。

用於此處，「抗衡陽離子」一詞表示與帶負電之金(III)錯合物結合之陽離子。抗衡陽離子之非限制性範例包括Na<sup>+</sup>及K<sup>+</sup>。

用於此處「TPP」一詞表示間-肆(四苯基)吡咯紫質之雙陰離子。

用於此處「GSH」一詞表示麩胱甘肽。

「-(6至10員)芳基」表示6至10員芳香環包括單環系及雙環系。代表性「-(6至10員)芳基」包括-苯基、-萘基及蒽基，其可經取代或未經取代。

「-(5至10員)雜芳基」表示含5至10員之芳香族雜環系環，包括單環系及雙環系，此處一個環或兩個環中之至少一個碳原子係以一個分別選自氮、氧及硫之雜原子置換。-(5至10員)雜芳基環中之一或二環含有至少一個碳原子。代表性-(5至10員)雜芳基包括-吡啶基、-咪喃基、-苯并咪喃基、-噻吩基、-苯并噻吩基、-喹啉基、-吡咯基、-吡啶基、-咪唑基、-苯并咪唑基、-噻唑基、-苯并噻唑基、-異噻唑基、-吡唑基、-異噻唑基、-噁吡基、-噁啉基、-噁唑基、-噁唑啉基、-噁唑啉基、-三吡基、-噁啉基、-噁吡基、-噁唑啉基等。-(5至10員)雜芳基可經取代或未經取代。

「-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基」表示含1至6個碳原子之飽和直鏈或分支非環狀烴。代表性飽和直鏈-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基包括-甲基、-乙基、-正丙基、-正丁基、-正戊基及-正己基。代表性飽和分支-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基包括-異丙基、-第二丁基、-異丁基、-第三丁基、-異戊基、-2-甲基丁基、-3-甲基丁基、-2,2-二甲基丁基、-2,3-

二甲基丁基、-2-甲基戊基、-3-甲基戊基、-4-甲基戊基等。

用於此處，「醫藥上可接受之載劑」一詞係經由美國聯邦主管機關或州政府核准，或列舉於美國藥典或其它一般了解之藥典供動物、哺乳類特別為人類使用。醫藥可接受之載劑之非限制性範例包括液體例如水及油，包括石油來源、動植物來源或合成來源之載劑。當本發明化合物係經靜脈投藥時，以水為較佳媒劑。也可使用食鹽水溶液及水性葡萄糖溶液及甘油溶液作為液體媒劑，特別用於注射溶液劑。

用於此處，「病人」一詞表示動物。動物之非限制性範例包括牛、猴、馬、羊、豬、雞、火雞、鵝鶉、貓、犬、小鼠、大鼠、兔及天竺鼠，更佳為哺乳類且最佳為人類。

如前文說明本發明係有關可用於誘導癌細胞凋亡之組合物。

一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中：

$R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-H、-鹵原子、 $-(C_1-C_6)$ 烷基或 $-O(C_1-C_6)$ 烷基、-(6-員)芳基或-(5至10-員)雜芳基，其各自經以一或多個-鹵原子、 $-(C_1-C_6)$ 烷基、 $-O(C_1-C_6)$ 烷基、 $-OSO_2$ 或 $-NO_2$ 取代；

$R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H、 $-(C_1-C_6)$ 烷基其可以一或多個 $-C(O)OR_{13}$ 、-鹵原子或=O基團取代；

$R_{13}$ 為 $-(C_1-C_6)$ 烷基；

各個  $X^p$  分別為醫藥上可接受之抗衡離子；

$m$  為 -3 至 5 之整數；

$p$  為 -3 至 3 之整數；

$n$  係等於  $m/p$  之絕對值；以及

一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式 (I) 金 (III) 錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中  $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$  及  $R_{12}$  各自分別為 -H； $X^p$  為  $Cl^-$ ； $m$  為 1； $n$  為 1；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式 (I) 金 (III) 錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中  $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$  及  $R_{10}$  各自分別為 -苯基； $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$  及  $R_{12}$  各自分別為 -H； $X^p$  為  $Cl^-$ ； $m$  為 1； $n$  為 1；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式 (I) 金 (III) 錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中  $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$  及  $R_{10}$  各自分別為 -4-甲基苯基； $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$  及  $R_{12}$  各自分別為 -H； $X^p$  為  $Cl^-$ ； $m$  為 1； $n$  為 1；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包



含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-4-甲氧基苯基； $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H； $X^P$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為1； $n$ 為1；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-4-溴苯基； $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H； $X^P$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為1； $n$ 為1；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-4-氯苯基； $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H； $X^P$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為1； $n$ 為1；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-3,4,5-三甲氧基苯基； $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H； $X^P$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為1； $n$ 為1；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包

含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-3,4,5-三氟苯基； $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H； $X^P$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為1； $n$ 為1；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-H； $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H； $X^P$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為1； $n$ 為1；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自為-H；以及 $R_2$ 及 $R_{11}$ 各自為-乙基； $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_9$ 及 $R_{12}$ 各自為-甲基； $R_6$ 及 $R_8$ 各自為-甲基-3-丙酸根； $X^P$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為1； $n$ 為1；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-4-(N-甲基)吡啶鎊； $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H； $X^P$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為5； $n$ 為5；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包

含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-4-磺酸根苯基； $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H； $X^p$ 為 $Na^+$ ； $m$ 為+3； $n$ 為3；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物含有效量之式(II)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中：

$R_1$ - $R_{12}$ 各自分別為-H、-鹵原子、 $-(C_1-C_6)$ 烷基或 $-O(C_1-C_6)$ 烷基其可經以一或多個 $-O(C_1-C_6)$ 烷基或-鹵原子取代；

$X$ 為抗衡陰離子；以及

一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物含有效量之式(II)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ - $R_4$ 各自為-H； $X$ 為 $Cl^-$ ；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物含有效量之式(II)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ - $R_{12}$ 各自為-H； $X$ 為 $Cl^-$ ；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物含有效量之式(II)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_3$ 、 $R_5$ - $R_7$ 及 $R_9$ - $R_{10}$ 各自為-H；以及 $R_4$ 及 $R_8$ 各自為-Cl； $X$ 為

$\text{Cl}^-$ ；以及一種醫藥上可接受之載劑。

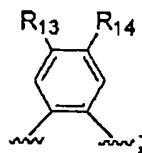
另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(II)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $\text{R}_1$ - $\text{R}_5$ 、 $\text{R}_7$ 、 $\text{R}_9$ 、 $\text{R}_{11}$ 各自為 $-\text{H}$ ；以及 $\text{R}_6$ 、 $\text{R}_8$ 、 $\text{R}_{10}$ 及 $\text{R}_{12}$ 各自為 $-\text{Cl}$ ； $\text{X}$ 為 $\text{Cl}^-$ ；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(III)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中：

(a)  $\text{R}_1$ - $\text{R}_{12}$ 各自分別為 $-\text{H}$ 、 $-\text{鹵}$ 原子、 $-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ 烷基或 $-\text{O}(\text{C}_6)$ 烷基其可經以一或多個 $-\text{O}(\text{C}_1-\text{C}_6)$ 烷基或 $-\text{鹵}$ 原子取代；

(b)  $\text{R}_1$ 及 $\text{R}_4$ 為不存在；以及 $\text{R}_2$ 及 $\text{R}_3$ 共同形成一個下式6-員

芳基環



$\text{Y}$ 為  $\text{X} = \text{---}\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{---}$  或  $\text{---}\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{S}}\text{---}$  ；

$\text{R}_{13}$ 及 $\text{R}_{14}$ 各自分別為 $-\text{H}$ 或 $-\text{鹵}$ 原子；

$\text{X}$ 為抗衡陰離子；以及

一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(III)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中

$\text{Y}$ 為  $\text{X} = \text{---}\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{---}$  ； $\text{X}$ 為 $\text{Cl}^-$ ；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(III)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ - $R_{12}$ 各自為-H；

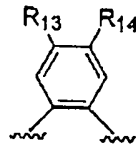
Y為  $X = \text{---}\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{---}$ ；X為 $\text{Cl}^-$ ；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(III)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ - $R_4$ 各自為-甲基； $R_5$ - $R_{12}$ 各自為-H；

Y為  $X = \text{---}\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{---}$ ；X為 $\text{Cl}^-$ ；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(III)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 及 $R_4$ - $R_{12}$ 各自為-H； $R_2$ 及 $R_3$ 各自為-苯基；

Y為  $X = \text{---}\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{---}$ ；X為 $\text{Cl}^-$ ；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種誘導癌細胞凋亡之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(III)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 及 $R_4$ 為不存在； $R_2$ 及 $R_3$ 共同形成；  $R_5$ - $R_{12}$ 各自為-H；

Y為  $X = \text{---}\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{---}$ ；X為 $\text{Cl}^-$ ；以及一種醫藥上可接受之載劑。

本發明亦係關於抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法。

一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中：

$R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-H、-鹵原子、 $-(C_1-C_6)$ 烷基或 $-O(C_1-C_6)$ 烷基、 $-(6-員)$ 芳基或 $-(5至10-員)$ 雜芳基，其各自經以一或多個-鹵原子、 $-(C_1-C_6)$ 烷基、 $-O(C_1-C_6)$ 烷基、 $-OSO_2$ 或 $-NO_2$ 取代；

$R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H、 $-(C_1-C_6)$ 烷基其可以一或多個 $-C(O)OR_{13}$ 、-鹵原子或 $=O$ 基團取代；

$R_{13}$ 為 $-(C_1-C_6)$ 烷基；

各個 $X^p$ 分別為醫藥上可接受之抗衡離子；

$m$ 為-3至5之整數；

$p$ 為-3至3之整數；

$n$ 係等於 $m/p$ 之絕對值；以及

一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H； $X^p$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為1； $n$ 為1；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種

組合物，該組合物包含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-苯基； $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H； $X^P$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為1； $n$ 為1；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-4-甲基苯基； $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H； $X^P$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為1； $n$ 為1；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-4-甲氧基苯基； $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H； $X^P$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為1； $n$ 為1；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-4-溴苯基； $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H； $X^P$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為1； $n$ 為1；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種

組合物，該組合物包含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-4-氯苯基； $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H； $X^P$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為1； $n$ 為1；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-3,4,5-三甲氧基苯基； $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H； $X^P$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為1； $n$ 為1；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-3,4,5-三氟苯基； $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H； $X^P$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為1； $n$ 為1；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-H； $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H； $X^P$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為1； $n$ 為1；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺



乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自為-H；以及 $R_2$ 及 $R_{11}$ 各自為-乙基； $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_9$ 及 $R_{12}$ 各自為-甲基； $R_6$ 及 $R_8$ 各自為-甲基-3-丙酸根； $X^P$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為1； $n$ 為1；以及一種醫藥上可接受之載劑。(1i)

另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-4-(N-甲基)吡啶鎊； $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H； $X^P$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為5； $n$ 為5；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-4-磺酸根苯基； $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H； $X^P$ 為 $Na^+$ ； $m$ 為+3； $n$ 為3；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(II)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中：

$R_1$ - $R_{12}$ 各自分別為-H、-鹵原子、 $-(C_1-C_6)$ 烷基或 $-O(C_1-C_6)$

烷基其可經以一或多個-O(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基或-鹵原子取代；

X為抗衡陰離子；以及

一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(II)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中R<sub>1</sub>-R<sub>4</sub>各自為-H；X為Cl<sup>-</sup>；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(II)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中R<sub>1</sub>-R<sub>12</sub>各自為-H；X為Cl<sup>-</sup>；以及一種醫藥上可接受之載劑。

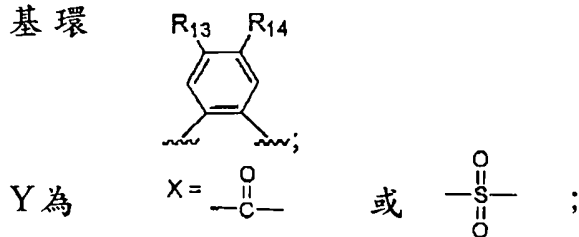
另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(II)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中R<sub>3</sub>、R<sub>5</sub>-R<sub>7</sub>及R<sub>9</sub>-R<sub>10</sub>各自為-H；以及R<sub>4</sub>及R<sub>8</sub>各自為-Cl；X為Cl<sup>-</sup>；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(II)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中R<sub>1</sub>-R<sub>5</sub>、R<sub>7</sub>、R<sub>9</sub>、R<sub>11</sub>各自為-H；以及R<sub>6</sub>、R<sub>8</sub>、R<sub>10</sub>及R<sub>12</sub>各自為-Cl；X為Cl<sup>-</sup>；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(III)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中：

(a)  $R_1$ - $R_{12}$ 各自分別為-H、-鹵原子、 $-(C_1-C_6)$ 烷基或 $-O(C_6)$ 烷基其可經以一或多個 $-O(C_1-C_6)$ 烷基或-鹵原子取代；或

(b)  $R_1$ 及 $R_4$ 為不存在；以及 $R_2$ 及 $R_3$ 共同形成一個下式6-員芳基環



$R_{13}$ 及 $R_{14}$ 各自分別為-H或-鹵原子；

X為抗衡陰離子；以及

一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(III)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中

Y 為  $X = \text{—}\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{—}$  ；X為 $\text{Cl}^-$ ；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(III)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ - $R_{12}$ 各自為-H；

Y 為  $X = \text{—}\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{—}$  ；X為 $\text{Cl}^-$ ；以及一種醫藥上可接受之載劑。

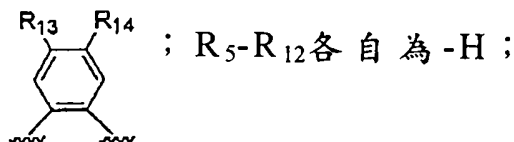
另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(III)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ - $R_4$ 各自為-甲基； $R_5$ - $R_{12}$ 各自為-H；

Y為  $x = \text{---}\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{---}$ ；X為 $\text{Cl}^-$ ；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(III)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 及 $R_4$ - $R_{12}$ 各自為-H； $R_2$ 及 $R_3$ 各自為-苯基；

Y為  $x = \text{---}\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{---}$ ；X為 $\text{Cl}^-$ ；以及一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(III)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 及 $R_4$ 為不存在； $R_2$ 及 $R_3$ 共同形成



Y為  $x = \text{---}\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{---}$ ；X為 $\text{Cl}^-$ ；以及一種醫藥上可接受之載劑。

本發明亦係關於包含一種金(III)錯合物以及一種醫藥上可接受之載劑之醫藥組合物。

一具體實施例中，本發明係有關一種組合物，包含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中：

$R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-H、-鹵原子、 $-(\text{C}_1\text{-C}_6)$ 烷基或 $-\text{O}(\text{C}_1\text{-C}_6)$ 烷基、-(6-員)芳基或-(5至10-員)雜芳基，其各自

經以一或多個-鹵原子、 $-(C_1-C_6)$ 烷基、 $-O(C_1-C_6)$ 烷基、 $-OSO_2$ 或 $-NO_2$ 取代；

$R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H、 $-(C_1-C_6)$ 烷基其可以一或多個 $-C(O)OR_{13}$ 、-鹵原子或=O基團取代；

$R_{13}$ 為 $-(C_1-C_6)$ 烷基；

各個 $X^p$ 分別為醫藥上可接受之抗衡離子；

$m$ 為-3至5之整數；

$p$ 為-3至3之整數；

$n$ 係等於 $m/p$ 之絕對值；以及

一種醫藥上可接受之載劑。

一具體實施例中，本發明係有關一種組合物，包含有效量之式(II)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中：

$R_1$ - $R_{12}$ 各自分別為-H、-鹵原子、 $-(C_1-C_6)$ 烷基或 $-O(C_1-C_6)$ 烷基其可經以一或多個 $-O(C_1-C_6)$ 烷基或-鹵原子取代；

$X$ 為抗衡陰離子；以及

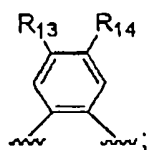
一種醫藥上可接受之載劑。

一具體實施例中，本發明係有關一種組合物，包含有效量之式(III)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中：

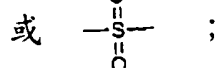
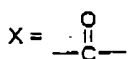
(a)  $R_1$ - $R_{12}$ 各自分別為-H、-鹵原子、 $-(C_1-C_6)$ 烷基或 $-O(C_6)$ 烷基其可經以一或多個 $-O(C_1-C_6)$ 烷基或-鹵原子取代；或

(b)  $R_1$ 及 $R_4$ 為不存在；以及 $R_2$ 及 $R_3$ 共同形成一個下式6-員

芳基環



Y為



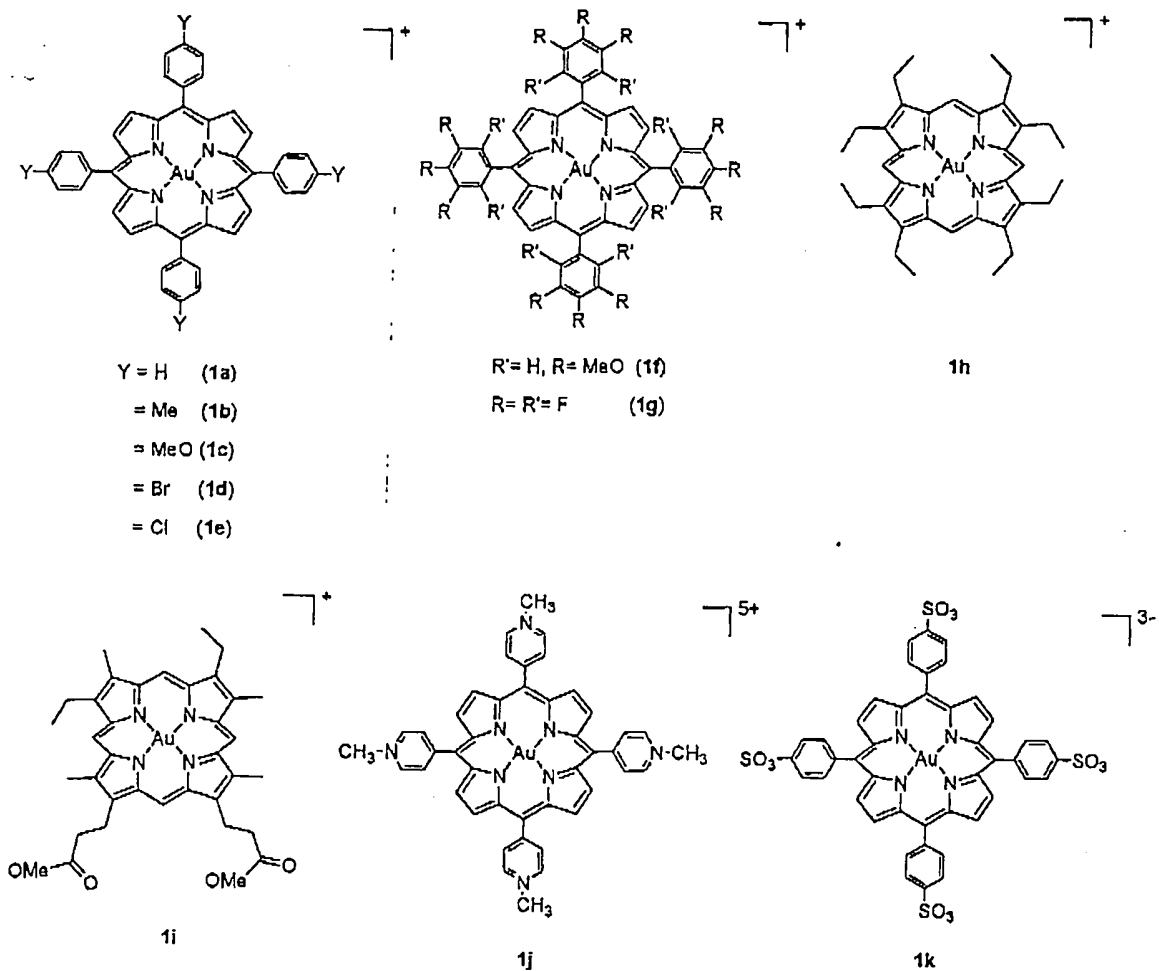
$R_{13}$ 及 $R_{14}$ 各自分別為-H或-鹵原子；

X為抗衡陰離子；以及

一種醫藥上可接受之載劑。

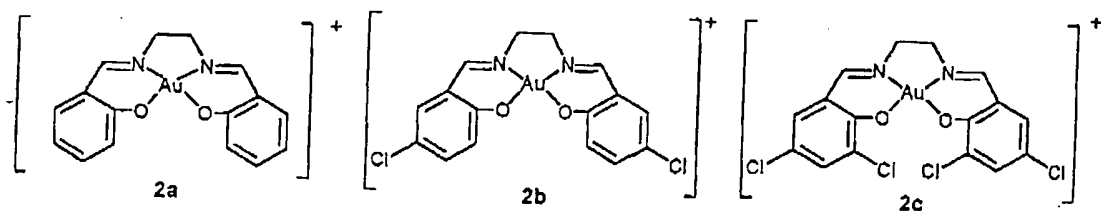
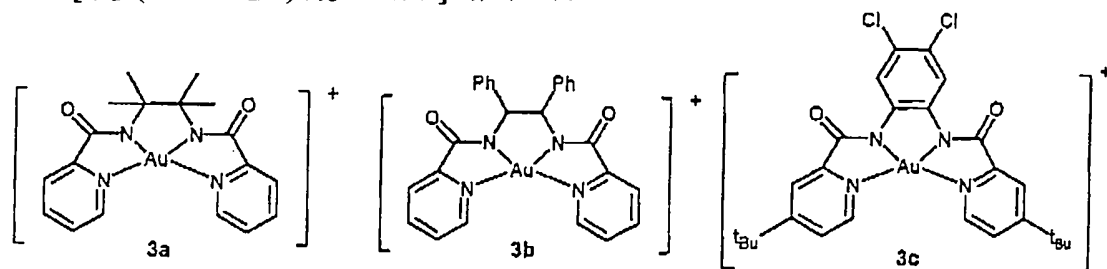
反應圖2顯示可用於本發明之金(III)吡咯紫質錯合物之說明例，其中錯合物1a-1j之抗衡離子為氯陰離子，以及錯合物1k之抗衡陽離子為 $Na^+$ 。

反應圖2



反應圖3顯示可用於本發明之金(III)席夫鹼錯合物(2)及金(III)雙(吡啶基)羧醯胺錯合物(3)之非限制性範例，此處抗衡陰離子為 $Cl^-$ 。

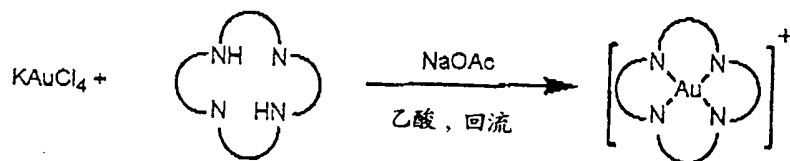
## 反應圖 3

Au<sup>III</sup>(席夫鹼)錯合物 2Au<sup>III</sup>[雙(吡啶基)羧醯胺]錯合物 3

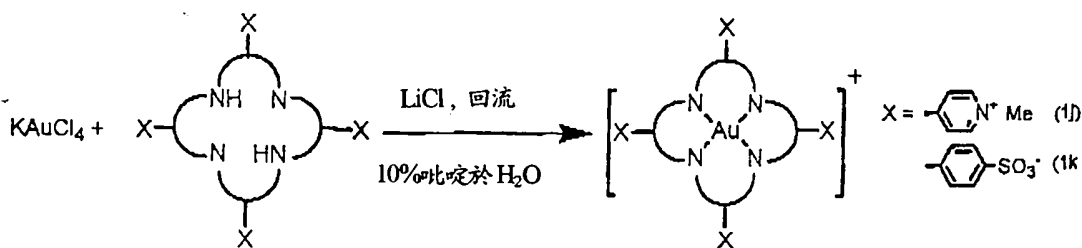
錯合物 1a-i (反應圖 2) 可根據參考文獻方法略有修改而製備(參考 MacCragh 等人, 美國化學會期刊 87: 2496(1965) 及 Fleischer 等人, 無機核子化學函件 5: 373-376(1969)), 經由於乙酸鈉存在下於乙酸, 使用自由態鹼吡咯紫質處理  $\text{KAuCl}_4$  或  $\text{nBu}_4\text{NAuCl}_4$  而製備。反應係使用標準徐朗克技術 (Schlenk technique) 於氮氣氣氛下進行。化合物 1a-i (反應圖 2) 之此種製備方法顯示於反應圖 4 路徑 1。

## 反應圖 4

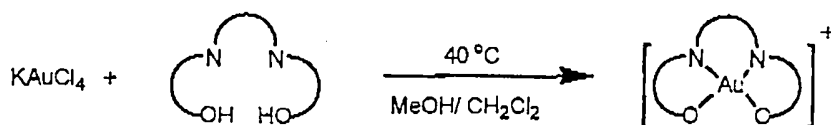
路徑 1: 用於  $[\text{Au(III)}(\text{四芳基吡咯紫質})]$  (1a-g),  $[\text{Au(III)}(\text{OEP})]$  (1h) 及  $[\text{Au(III)}(\text{間吡咯紫質 IX})]$  (1i)



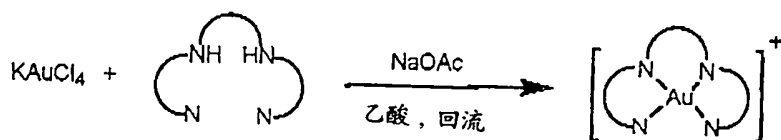
路徑 2：用於  $[\text{Au(III)(TMPyP)}]^{5+}$  (1j) 及  $[\text{Au(III)(TPPS)}]^{3-}$  (1k)



路徑 3：用於  $[\text{Au(III)(席夫鹼)}]$  錯合物 (2a-2c)



路徑 4：用於  $[\text{Au(III)(雙-吡啶基醯胺)}]$  錯合物 (3a-3c)



使用鋁氧以管柱層析術純化後，接著使用氯化鋰於水性丙酮置換，獲得分析上純質之金(III)吡咯紫質錯合物，呈氯陰離子鹽，60-70%產率(參考實施例乙節)。

錯合物 1j 及 1k 可以類似用於製備錯合物 1a-1i 之公開程序製備，但反應係使用 10% 水性吡啶作為溶劑進行(參考 Jamin 等人，無機化學期刊 27：135-143(1978))；Gibbs 等人，無機生物化學期刊 32：39-65(1988)；及 Pasternack，無機核子化學期刊 36：599(1974))，獲得錯合物 1j 及 1k，約 35% 產率。此種程序顯示於反應圖 4 路徑 2。

金(III)席夫鹼錯合物 2a-2c 可以類似 Barnholtz 等人，無機化學 40：972(2001) 報告之方式製備。於室溫於二氯甲烷/甲醇混合物(5：1)處理自由態席夫鹼配位體(0.15 毫莫耳)及



$\text{KAuCl}_4$  (0.037毫莫耳)，獲得金(III)席夫鹼錯合物，約25%分離產率。此項製備程序顯示於反應圖4路徑3。

金(III)雙(吡啶基)羧醯胺錯合物3a-3c可以類似前文對錯合物2a-2c所述方式製備，經由於乙酸鈉於乙酸存在下，讓 $\text{KAuCl}_4$ 與自由態鹼雙(吡啶基)羧醯胺反應而製備。於使用蒸餾水徹底洗滌且使用氯化鋰於水性丙酮置換後，獲得分析上純質之金(III)雙(吡啶基)羧醯胺錯合物，呈氣陰離子鹽，50-60%產率。此種程序顯示於反應圖4，路徑4。

間-四苯基吡咯紫質( $\text{H}_2\text{TPP}$ )、間-肆(4-甲苯基)吡咯紫質( $\text{H}_2\text{TTP}$ )、間-肆(4-甲氧基苯基)吡咯紫質( $\text{H}_2\text{TOMePP}$ )、間-肆(4-溴苯基)吡咯紫質( $\text{H}_2\text{TBP}$ )、間-肆(4-氯苯基)吡咯紫質( $\text{H}_2\text{TCP}$ )及間-肆(3,4,5-三甲氧基苯基)吡咯紫質( $\text{H}_2\text{TTMPP}$ )可根據參考文獻方法製備或由商業來源獲得。參考Adler，有機化學期刊32：476(1967)；Keinan等人，無機化學31：5433-5438(1992)；及Barnett等人，四面體函件30：2887-2888(1973)。間-肆(N-甲基吡啶鎊-4-基)吡咯紫質( $\text{H}_2\text{TMPyP}$ )、2,3,7,8,12,13,17,18-八乙基吡咯紫質( $\text{H}_2\text{OEP}$ )以及間吡咯紫質IX( $\text{H}_2\text{MP}$ )係得自亞利須(Aldrich)化學公司，威斯康辛州密瓦基。間-肆(五氟苯基)吡咯紫質( $\text{H}_2\text{TF5PP}$ )及間-肆(4-磺酸根苯基)吡咯紫質( $\text{H}_2\text{TPPS}$ )係得自芙盧卡(Fluka)化學公司(瑞士伯克)。

四丁基四氯金酸銨( $n\text{-Bu}_4\text{NAuCl}_4$ )可由 $[\text{nBu}_4\text{N}]\text{Cl}$ 與 $\text{HAuCl}_4$ 於0.01 M鹽酸之置換反應而製備。

特別本發明係有關使用金(III)吡咯紫質錯合物以及含有

四配位基雙陰離子巨環配位體之相關類似物(參考反應圖2及3, 例如第III類)作為新穎抗腫瘤金(III)化合物之用途。

由於金(III)錯合物之氧化還原電位高, 金(III)錯合物通常於溶液中不安定, 溶液於緩衝液內進行分解成為金(I)/膠體金。但本發明金(III)錯合物於生理相關條件下穩定。舉例言之不欲受任何特定理論所限, 金(III)吡咯紫質錯合物1a-1k化合物之穩定性相信部分係來自於: (1)強 $\sigma$ -施體而穩定氧化金屬中心, (2)強螯合效應而避免非期望的去金屬化, 以及(3)剛硬之配位體骨架(特別吡咯紫質)經由提高還原成為二配位金(I)中心之動力學屏障(球內重新組織能)而穩定四配位金(III)中心。

若干具體實施例中, 金(III)錯合物可配位至另一個分子。可配位至金(III)錯合物之分子包括(但非限制性)吡咯紫質、金屬吡咯紫質、胺基酸、胜肽、多肽、蛋白質、核苷酸、多核苷酸、DNA、RNA、施體基團及受體基團、抗原、抗體、抗病毒化合物及抗癌化合物。須了解當金(III)錯合物配位至低聚物分子或聚合物分子時, 此種分子可為線性或分支。

吡咯紫質或吡咯紫質類錯合物之非限制性範例包括由天然分離之吡咯紫質; 合成吡咯紫質; 酞花青; 克洛林斯(chlorins); 具有對稱以及非對稱取代基於環周邊任一個位置之經取代之吡咯紫質及吡咯紫質類化合物; 帶中性電荷之吡咯紫質; 帶正電吡咯紫質; 帶負電吡咯紫質; 帶電吡咯紫質組合抗衡離子包括鹼金屬離子、鹼土金屬離子及稀

土金屬離子。

抗病毒化合物之非限制性範例包括HPA-23、干擾素、雷巴威林(ribavirin)、磷基甲酸酯、恩沙黴素(ansamycin)、蘇拉明(suramin)、伊母席歐(imuthiol)、青黴胺、卡波維(carbovir)、3'-疊氮基-3'-去氧基胸苷、2',3'-二去氧基胞苷、2',3'-二去氧基肌苷、2',3'-二去氧基腺苷、3'-疊氮基-3'-去氧基尿苷、2',3'-二去氧基-2',3'-二去氮胞苷、3'-去氧-2',3'-二去氧基胸苷及3'-疊氮基-5-乙基-2',3'-二去氧基尿苷。

抗癌化合物之非限制性範例包括西鉑汀、卡鉑汀(carboplatin)、布里歐黴素(bleomycin)、文克斯汀(vincristine)、文布斯汀(vinblastine)、阿黴素(doxorubicin)、環磷醯胺(cyclophosphamide)、普尼松(prednisone)、美索崔塞(methotrexate)、德莎美沙松(dexamethasone)、盧可佛林(leucovorin)及布雷諾桑(blenoxane)。

癌細胞之非限制性範例包括哺乳類癌細胞；以及培養之癌細胞如人類子宮頸類上皮癌細胞、口腔類上皮癌細胞、鼻咽癌細胞、人類骨髓細胞原性白血病細胞及人類肝細胞癌細胞。

金(III)錯合物可用於誘導癌細胞的凋亡。細胞死亡可歸納成兩類亦即壞死("意外性"細胞死亡)以及細胞凋亡("計畫性"細胞死亡)。細胞壞死造成嚴重發炎，但細胞凋亡則否。以無害之方式去除細胞(例如癌細胞)屬於化學治療之一項考量。因此誘導細胞凋亡變成抗癌藥物發展上的考量之一。目前臨床使用之大部分胞毒性抗癌藥物皆顯示於敏感

性細胞誘生細胞凋亡。申請人進行試管試驗研究，顯示金(III)錯合物可用於誘導癌細胞凋亡。不欲受特定理論所限，相信金(III)錯合物"切開"細胞DNA而造成氧化壓力。

特別DNA為抗癌藥物之主要目標之一。參考Hurley等人，癌症自然綜論，2: 188-200(2002)。眾所周知吡咯紫質之金屬吡咯紫質經由鑲嵌作用以及小切槽結合作用而與DNA交互作用。早期Liu及Lippard從事的研究工作顯示含有多吡啶配位體之金(III)錯合物例如(C<sup>N</sup>N)以及參聯吡啶(terpy)係經由鑲嵌而結合至DNA。[參考Liu等人，化學會期刊化學通訊17: 1787-1788(1995); 以及Hollis等人，美國化學會期刊105: 4293-4299(1983)]。根據Ward及Dabrowiak之研究工作，Et<sub>3</sub>PAuBr<sub>3</sub>將透過鳥嘌呤之N7而共價鍵結至DNA(參考Ward等人，美國化學會期刊1987，109: 3810-3811(1987)。有關金(III)吡咯紫質之胞毒性，發明人研究錯合物Ia與DNA之結合交互作用。

反轉錄酶代表抗HIV化學治療藥物發展中的主要目標之一。金(III)錯合物也可有用地抑制反轉錄酶。一具體實施例中，反轉錄酶為人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶。

若干具體實施例中，本發明之金(III)錯合物可組合至少另一種金(II)錯合物或另一種治療劑使用。其它治療劑之非限制性範例包括抗癌劑及抗HIV劑。一具體實施例中，抗HIV劑為AZT。

一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種組

合物，該組合物包含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中：

$R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-H、-鹵原子、 $-(C_1-C_6)$ 烷基或 $-O(C_1-C_6)$ 烷基、-(6-員)芳基或-(5至10-員)雜芳基，其各自經以一或多個-鹵原子、 $-(C_1-C_6)$ 烷基、 $-O(C_1-C_6)$ 烷基、 $-OSO_2$ 或 $-NO_2$ 取代；

$R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H、 $-(C_1-C_6)$ 烷基其可以一或多個 $-C(O)OR_{13}$ 、-鹵原子或=O基團取代；

$R_{13}$ 為 $-(C_1-C_6)$ 烷基；

各個 $X^p$ 分別為醫藥上可接受之抗衡離子；

$m$ 為-3至5之整數；

$p$ 為-3至3之整數；

$n$ 係等於 $m/p$ 之絕對值；

AZT；及

一種醫藥上可接受之載劑。

另一具體實施例中，本發明係有關一種抑制人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶之方法，包含投予有需要之病人一種組合物，該組合物包含有效量之式(I)金(III)錯合物或其醫藥上可接受之鹽，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-4-(N-甲基)吡啶鎊； $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H； $X^p$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為5； $n$ 為5；AZT；以及一種醫藥上可接受之載劑。

舉出下列實施例來輔助了解本發明，但絕非限制此處所述及所請求專利之發明。本發明之此等變化包括今日已知

或未來將發展出的全部相當取代皆係屬於熟諳技藝人士之技巧範圍，調配或實驗設計上的微小變化皆係落入本發明之範圍。

### 實施例

材料。除了特別述及之外，全部化學品皆係購自希格瑪亞利須(Sigma-Aldrich)化學公司(日本東京)。乙腈及二氯甲烷係由氫化鈣新鮮蒸餾獲得。全部實驗使用分析級有機溶劑及重蒸餾去離子水。

小牛胸腺DNA係購自希格瑪亞利須化學公司，且係藉酚-氯仿萃取純化。DNA溶解於緩衝液(5 mM Tris, 5 mM NaCl, pH 7.2)。小牛胸腺DNA濃度(每一鹼基對)係基於  $\epsilon_{260}$ , 13,200  $M^{-1}cm^{-1}bp$ 以分光光譜術測定。

人骨髓細胞原性白血病(HL-60)、人肝細胞癌(HepG2)、人子宮頸類上皮癌細胞(HeLa)及人口腔類上皮癌細胞(KB-3-1)係得自美國種型培養收集會(ATCC)(美國馬里蘭州洛克維爾)。多重藥物抗藥性變異株KB-V1細胞系係如Shen等人，生物化學期刊 261: 7762-7770(1986)所述，藉逐步選擇文布斯汀抗藥性獲得，且由Michael Gottesman(美國國家衛生院，馬里蘭州，貝塞達)慷慨提供。人鼻咽癌細胞(SUNE1及其西鉑汀抗藥性變異株，CNE1)係如Gu等人臨床癌症期刊 2: 270-272(1983)所述由中國病人之分化不良之鼻咽癌(NPC)衍生而得，且為S.W. Tsao博士(香港大學，中華人民共和國，香港)所慷慨提供。細胞培養瓶及96孔微力價孔板係得自拿吉南克(Nalge Nunc)國際公司。培養基、其它

培養基成分及磷酸鹽緩衝食鹽水(PBS)係得自Gibco BRL(美國馬里蘭州洛克維)。細胞增生套件組I(MTT)係購自羅氏公司(Roche)(德國曼漢)。

裝備。測試設備全部吸收光譜皆係記錄於伯金愛瑪(Perkin-Elmer)λ19或維安凱利(Varian Cary)50紫外光-可見光分光光度計裝配有PCB-150水循環器。<sup>1</sup>H NMR光譜係記錄於布魯克(Bruker)DPX-300或DPX-500 NMR光譜儀。正離子FAB質譜係記錄於菲尼根(Finnigan)MAT95質譜儀。黏度評估係使用佳能曼寧(Cannon-Manning)半微黏度計(佳能儀器公司,賓州州立大學)進行。週期性電壓測量係使用PAAR型號175通用程式規劃器及型號173恆電位計進行;週期性電壓圖係使用吉普佐南(Kipp & Zonen)BD 90 X-Y記錄器以200 mVs<sup>-1</sup>之掃描速度記錄。流動細胞計量分析係使用裝配有長480、帶525以及長通625鏡之庫特(Coulter)EPICS流動細胞計(庫特,佛羅里達州邁阿密)進行。樣本以15毫瓦之氣冷式氬氣收斂雷射於488奈米激發。螢光信號使用庫特宜萊(Elite)4.0軟體(庫特)公司操控,藉Winlist 1.04及Modfit 5.11軟體(維洛堤(Verity)軟體工作室,緬因州脫普迅)分析。

全部錯合物皆藉UV-vis、<sup>1</sup>H NMR及FAB-MS以光譜術決定特徵,藉元素分析證實純度大於99%。

#### 實施例1:金(III)錯合物之製備

實施例1說明金(III)錯合物1a-1k之製備及特徵化。

金(III)錯合物1a-1i。金(III)吡咯紫質之合成係於氮氣氣氛下使用標準徐朗克技術進行。錯合物1a-i(反應圖2)係根

據參考文獻方法略有修改製備。參考MacCragh等人，美國化學會期刊 87: 2496(1965)及Fleischer等人，無機核子化學函件 5: 373-376(1969)。通常KAuCl<sub>4</sub>或[nBu<sub>4</sub>N]AuCl<sub>4</sub> (0.508毫莫耳)及乙酸鈉(2.538毫莫耳)於乙酸(20毫升)加熱至80°C歷15分鐘。自由態吡咯紫質(0.406毫莫耳)於乙酸(10毫升)之溶液逐滴加入其中。混合物回流加熱0.5至2小時，使用UV-Vis分光光譜術藉Q頻帶的消失來檢驗金屬化的完成。真空去除溶劑後，殘餘物溶解於二氯甲烷(40毫升)。二氯甲烷溶液以水(2 x 40毫升)洗兩次，來去除任何未反應之KAuCl<sub>4</sub>及NaOAc，且預先濃縮至3毫升。於填裝中性90-礬土之管柱層析。管柱使用二氯甲烷洗提來去除未反應之自由態吡咯紫質，金(III)吡咯紫質錯合物使用二氯甲烷/甲醇(99:1, v/v)洗提。蒸發去除溶劑以及錯合物由氯仿/石油醚(1:1, v/v)混合物再結晶後，獲得紅紫色固體。

金(III)錯合物1j-k。錯合物1j及1k係根據公開程序製備。參考Gibbs等人，無機化學期刊 32: 39-65(1988); 及Pasternack，無機核子化學期刊 36: 599(1974)。

金(III)錯合物1a-1k具有明確解析之<sup>1</sup>H NMR光譜。至於錯合物1a-1g及1j-1k，全部吡咯氮原子皆相等，符合D<sub>4</sub>對稱性。

錯合物1a-1k之分析資料顯示如後：

錯合物1a：UV-vis (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) λ<sub>max</sub>/nm(log ε):409(5.68), 521(4.73)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>): δ 9.28(s, 8H), 7.89(m, 8H), 8.24(d, 8H), 7.89(m, 4H)。m/z=809。產率70%。C<sub>44</sub>H<sub>28</sub>N<sub>4</sub>ClAu(%)之分析計算值：C, 62.53; H, 3.34; N, 6.63。實測值：C, 62.50;



H, 3.61 ; N, 6.74。

錯合物 1b : UV-vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )  $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}(\log \epsilon)$ :413(5.41), 522 (4.62)。 $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$  :  $\delta$  9.29(s, 8H), 7.67(d, 8H), 8.10(d, 8H), 2.75(s, 12H)。 $m/z=865$ 。產率 69%。 $\text{C}_{48}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{ClAu}(\%)$ 之分析計算值 : C, 63.97 ; H, 4.03 ; N, 6.22。實測值 : C, 63.82 ; H, 4.39 ; N, 5.82。

錯合物 1c : UV-vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )  $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}(\log \epsilon)$ :423(5.26), 527 (4.34)。 $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$  :  $\delta$  9.31(s, 8H), 7.38(d, 8H), 8.13(d, 8H), 4.13(s, 12H)。 $m/z=929$ 。產率 63%。 $\text{C}_{48}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_4\text{ClAu}(\%)$ 之分析計算值 : C, 59.73 ; H, 3.76 ; N, 5.80。實測值 : C, 59.55 ; H, 3.49 ; N, 5.99。

錯合物 1d : UV-vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )  $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}(\log \epsilon)$ :411(5.53), 522 (4.48)。 $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$  :  $\delta$  9.24(s, 8H), 7.80(d, 8H), 8.14(d, 8H)。 $m/z=1125$ 。產率 60%。 $\text{C}_{44}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{Br}_4\text{ClAu}(\%)$ 之分析計算值 : C, 45.53 ; H, 2.08 ; N, 4.83。實測值 : C, 46.01 ; H, 2.35 ; N, 4.79。

錯合物 1e : UV-vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )  $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}(\log \epsilon)$ :409(5.47), 520 (4.34)。 $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$  :  $\delta$  9.23(s, 8H), 7.88(d, 8H), 8.20(d, 8H)。 $m/z=947$ 。產率 61%。 $\text{C}_{44}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{Cl}_5\text{Au}(\%)$ 之分析計算值 : C, 53.77 ; H, 2.46 ; N, 5.70。實測值 : C, 53.46 ; H, 2.72 ; N, 5.68。

錯合物 1f : UV-vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )  $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}(\log \epsilon)$ :423(5.18), 526 (4.17)。 $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$  :  $\delta$  9.36(s, 8H), 7.57(s, 8H), 3.98(s, 24H), 4.19(s, 12H)。 $m/z=1169$ 。產率 70%。 $\text{C}_{56}\text{H}_{52}\text{O}_{12}\text{N}_4\text{ClAu}(\%)$

之分析計算值：C, 55.80；H, 4.35；N, 4.65。實測值：C, 55.56；H, 4.28；N, 4.57。

錯合物 1g：UV-vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )  $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}(\log \epsilon)$ :402(5.71), 518(4.55), 552(4.10)。 $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ :  $\delta$  9.48(s, 8H)。m/z=1170。產率 60%。C<sub>44</sub>H<sub>8</sub>N<sub>4</sub>F<sub>20</sub>ClAu 之分析計算值：C, 43.86；H, 0.67；N, 4.65。實測值：C, 43.93；H, 0.65；N, 4.62。

錯合物 1h：UV-vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )  $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}(\log \epsilon)$ :389(5.35), 510(3.98), 545(4.23)。 $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ :  $\delta$  10.51(s, 8H), 2.10(t, 24H), 1.59(q, 16H), 7.89(m, 4H)。m/z=731。產率 62%。C<sub>36</sub>H<sub>44</sub>N<sub>4</sub>ClAu(%) 之分析計算值：C, 56.51；H, 5.80；N, 7.32。實測值：C, 56.14；H, 5.67；N, 7.58。

錯合物 1i：UV-vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )  $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}(\log \epsilon)$ :398(5.12), 518(3.89), 548(4.12)。 $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ :  $\delta$  10.63(s, 4H)。m/z=789。產率 64%。C<sub>36</sub>H<sub>42</sub>O<sub>4</sub>N<sub>4</sub>ClAu(%) 之分析計算值：C, 52.27；H, 5.12；N, 6.77。實測值：C, 51.94；H, 4.85；N, 6.57。

錯合物 1j：UV-vis ( $\text{H}_2\text{O}$ )  $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}(\log \epsilon)$ :405(4.89), 522(3.98), 556(3.64)。 $^1\text{H NMR}(\text{D}_2\text{O})$ :  $\delta$  9.52(s, 8H), 9.33(d, 8H), 9.03(d, 8H), 2.07(s, 12H)。m/z=175。產率 34%。C<sub>44</sub>H<sub>60</sub>N<sub>8</sub>O<sub>12</sub>Cl<sub>5</sub>Au(%) 之分析計算值：C, 41.70；H, 4.77；N, 8.84。實測值：C, 41.98；H, 4.65；N, 8.57。

錯合物 1k：UV-vis ( $\text{H}_2\text{O}$ )  $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}(\log \epsilon)$ :407(5.34), 521(4.39)。 $^1\text{H NMR}(\text{D}_2\text{O})$ :  $\delta$  8.62(s, 8H), 7.69(d, 8H), 8.24(d, 8H)。m/z=375。產率 42%。C<sub>44</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>O<sub>20</sub>ClS<sub>4</sub>Na<sub>4</sub>Au(%) 之分析計算值：C, 37.82；H, 2.89；N, 4.01。實測值：C, 37.57；H, 3.01；

N, 4.17。

錯合物 1a-1k(金吡咯紫質錯合物)之UV-vis光譜具有強索瑞特(Soret)頻帶及較弱之Q頻帶特徵。比較經過封閉之d殼金屬吡咯紫質之光譜，本發明之金屬錯合物之索瑞特頻帶之吸收能有獨特欄位移(hypso, 參考圖1)。不欲受限於任何特定理論，相信古特曼(Goutermann's)四軌模，金(III)吡咯紫質之hypso光譜係由於金屬填補之 $d_{\pi}$ 與吡咯紫質配位體之空白 $\pi^*$ 軌間之金屬至配位體 $\pi$ -回鍵結交互作用的結果。

X光晶體測定。錯合物 1a之晶體係經由正戊烷緩慢擴散入錯合物 1a於氯仿之溶液獲得。尺寸0.4 x 0.1 x 0.1毫米之紫色晶體安裝於玻璃纖維上用於28°C收集資料，資料係於具有300毫米影像平板偵測器之MAR繞射計，使用石墨單色化 $\text{Mo-K}_{\alpha}$ 輻射( $\lambda = 0.71073$ 埃)收集。資料的收集係使用3度振盪階 $\varphi$ ，300秒曝光時間以及120毫米掃描距離進行。收集48個影像。影像經過解譯，強度係使用程式DENZO積分[Otwinowski, Z.及Minor, W., 於振盪模收集之X光繞射資料之處理，酶學方法，Carter C.W., Sweet Jr.及R.M.編輯，學術出版社；1997年；276期，307-326頁]。結構係採用SHELXS-97程式藉直接方法解析[Sheldrick, G., M. SHELX97。晶體結構分析程式(97年2月發行)，德國葛廷貞大學，1997年]。金、氯以及多種非氫原子係根據直接方法定位。其它非氫原子係於使用程式SHELXL-97藉全矩陣最小平方成功地精製之後定位。

錯合物 1a之分子結構係藉X光晶相學確定(圖2)。錯合物

1a之晶相學資料收集參數以及選定之鍵角及距離分別摘述於表1及表2。如圖2所示，金(III)中心為4-配位，且係位於4吡咯巨環平面內部。Au-N距離為2.032(5)及2.033(5)埃，可媲美參考文獻之相關距離(1.93至2.14埃)。例如參考Hollis等人，美國化學會期刊 105 : 4293-4299(1983)，揭示[Au(terpy)Cl]<sup>2+</sup>(terpy=2,2',2''-三聯吡啶)；Liu等人，化學會期刊，化學通訊 17 : 1787-1788(1995)，揭示[Au(C<sup>^</sup>N<sup>^</sup>N)Cl]<sup>+</sup>(C<sup>^</sup>N<sup>^</sup>N=6'-苯基-2,2'-聯吡啶)；以及Calamai等人，無機化學期刊 285 : 309-312(1999)，揭示[Au(esal)]<sup>2+</sup>(esal=N-乙基水楊醛鹽亞胺酸根)。

表1. 錯合物 1a 之 X 光晶相學資料

實驗式	C <sub>44</sub> H <sub>28</sub> AuClN <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	
式量	909.12	
溫度	253(2)K	
波長	0.71073 埃	
晶系	斜方晶系	
空間組	Pnna	
單位晶胞尺寸	a=8.1020(16) 埃	α=90 度
	b=20.964(4) 埃	β=90 度
	c=20.060(4) 埃	γ=90 度
容積	3407.2(12) 埃	
Z	4	
密度(計算值)	1.772 毫克/立方米	
吸收係數	4.451 毫米 <sup>-1</sup>	
F(000)	1792	

晶體大小	0.4 x 0.1 x 0.1 立方毫米
資料收集之 $\theta$ 範圍	1.40 至 25.63 度
指數範圍	$-9 \leq h \leq 9$ , $-24 \leq k \leq 25$ , $-24 \leq l \leq 24$
收集之反射	13426
個別反射	3006 [R(int)=0.0478]
完成至 $\theta = 25.63$ 度	95.3%
吸收校正	無
精製方法	$F^2$ 之全矩陣最小平方
資料/限制/參數	3066/0/248
配合 $F^2$ 之良好程度	0.934
終R指數 [ $I > 2\theta(I)$ ]	$R_1 = 0.0308$ , $wR_2 = 0.0790$
R指數 (全部資料)	$R_1 = 0.0645$ , $wR_2 = 0.1040$
最大繞射尖峰及孔	0.716 及 -1.590 e 埃 <sup>-3</sup>

表 2. 錯合物 1a 選用之鍵結距離 (埃) 及鍵角 (度)

	鍵結距離 (埃)
Au-N(1)	2.032(5)
Au-N(1*)	2.032(5)
Au-N(2*)	2.033(5)
Au-N(2)	2.033(5)
	鍵角 (度)
N(1)-Au-N(1*)	89.8(3)
N(1)-Au-N(2*)	177.31(19)
N(1*)-Au-N(2*)	90.1(2)
N(1)-Au-N(2)	90.1(2)
N(1*)-Au-N(2)	177.31(19)
N(2*)-Au-N(2)	90.1(3)

金(III)錯合物 2(席夫鹼)及 3c(雙(吡啶基)羧醯胺)；金(III)錯合物 2a及 3c係根據已報告程序， $K[Au^{III}Cl_4]$ 與對應配位體於回流乙腈(用於 2a)及乙酸(用於 3c)反應而製備(參考 Barnholtz 等人，無機化學 40：972-976，(2001))。錯合物係以  $^1H$ -NMR 及 FAB-MS 光譜術決定特徵。

錯合物 2a：FAB-MS： $m/z=463(M^+)$ 。

錯合物 3c：FAB-MS： $m/z=694(M^+)$ 。

### 實施例 2. 金(III)錯合物之安定性研究

實施例 2 說明範例金(III)錯合物 1a、1b、1c、1d、1e、2a 及 3c 之安定性研究結果。

UV-vis 實驗。用於 UV-vis 分析，監視  $2.5 \mu M$  (7 毫莫耳)全部接受研究之錯合物於 (1 : 19) MeCN/Tris 緩衝液之吸收光譜經 72 小時時間。Tris 緩衝液/乙腈 (19 : 1) 溶液及錯合物 1a 溶液顯示強索瑞特吸收頻帶於  $\lambda_{max}=410$  奈米 ( $\epsilon=240,000$  立方分米莫耳 $^{-1}$ 厘米 $^{-1}$ ) 以及較弱的 Q 頻帶於  $\lambda_{max}=520$  奈米。金(III)溶液於室溫監視 48 小時時間，觀察得索瑞特頻帶強度減少少於 10%，索瑞特頻帶及 Q 頻帶並無任何顯著平移。結果顯示於圖 3。

但於麩胱甘肽 (2 mM 於 Tris 緩衝液/乙腈=19:1) 存在下，於室溫放置 48 小時時間，發現錯合物 1a 之索瑞特頻帶強度下降約 27%，伴隨有頻帶加寬(圖 4)。但未觀察得顯著平移以及形成新的吸收帶。小心檢驗 Q 頻帶區，並未顯示任何吸收峰係對應於自由態鹼吡咯紫質的存在 ( $\lambda_{max}=514, 548, 590$  及 640 奈米)，如此排除去金屬化。不似錯合物 1a，錯合物

1j之UV-vis光譜於含麩胱甘肽(2 mM)之相同緩衝介質下，經72小時時間並未顯示任何變化，亦即並未觀察得索瑞特頻帶強度及頻帶形狀之任何顯著變化。

UV-vis研究也顯示錯合物1j及1k於室溫經48小時時間於Tris緩衝食鹽水(TBS; pH 7.2)維持穩定。此外，使用過量GSH處理1j/1k時，未觀察得UV-vis光譜變化。此項發現證實1j及1k於生理相關介質具有絕佳溶液安定性。

同理，席夫鹼(2a)及雙(吡啶基)羧醯胺(3c)錯合物之TBS-MeCN (9:1)(pH 7.2)溶液於室溫放置4小時後，並未顯示顯著光譜變化。結果指示金(III)席夫鹼(2a)及雙(吡啶基)羧醯胺錯合物穩定。但添加GSH至錯合物2a及3c之TBS溶液，結果導致自身光譜變化，伴隨有若干膠體金及淺黃色沈澱的生成。沈澱可溶於一般有機溶劑如THF、氯仿及DMSO，但不溶於水溶液。沈澱之FAB-MS分析顯露錯合物2a之自由態 $H_2Salen$  ( $m/z=267$ )分子離子以及錯合物3c之 $H_2N_4$  ( $m/z=498$ )分子離子。但其餘溶液之ESI-MS分析並未顯示任何對應錯合物2a ( $m/z=463$ )以及3c ( $m/z=694$ )之分子離子的任何離子物種。結果指出錯合物2a及3c當於GSH反應時，進行徹底去金屬化，金(III)還原成為膠體金。

$^1H$ -NMR實驗。NMR實驗係使用錯合物1a (0.5 mM)之 $d_3$ -MeCN/ $D_2O$  (1:9)溶液，於4莫耳當量GSH存在下，如Sun等人，歐洲生物化學期刊 267: 5450-5457(2000)。pH以NaOD調整至7.4，溶液藉由通入氮氣除氣10分鐘，來最小化GSH的氧化。對錯合物1j進行類似實驗，但只於 $D_2O$ 進行分析。

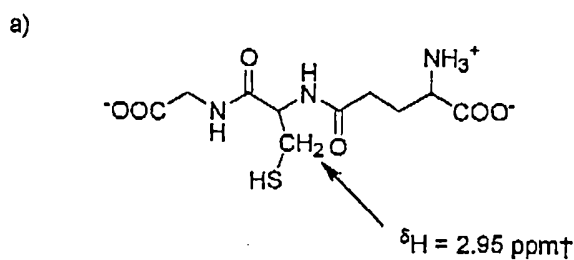
然後監視所得混合物之電子頻譜歷時72小時。

錯合物 1a/GSH (2 mM) 混合物係藉  $^1\text{H}$  NMR 於  $\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{CN}$  混合物 (9:1 v/v) 監視，於室溫經 72 小時未觀察得顯著變化。已知吡咯質子之化學位移對金中心的氧化鈦敏感。金(III) 還原成為金(I)或金(0)預期伴隨有吡咯區之頻譜變化。但於本研究工作，發明人對錯合物 1a 及 1j 並未觀察得芳香族區 ( $\delta_{\text{H}}$  7.2-8.4 ppm) 之頻譜樣式有任何顯著變化，因此金(III) 藉 GSH 還原成為金(I)或金(0)站不住腳。此項發現強力提示，金(III)吡咯紫質於生理條件，即使於溫和還原劑存在下仍然維持穩定。

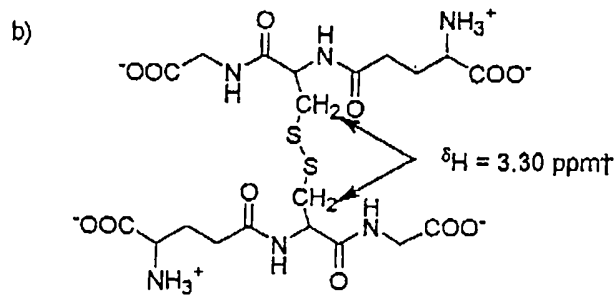
同理，當使用過量 GSH 處理 1j/1k 時，未觀察得顯著  $^1\text{H}$  NMR 頻譜變化。此項發現證實 1j 及 1k 於生理相關介質具有絕佳溶液穩定性。

麩胱甘肽使用溫和氧化劑如金(III)錯合物，氧化而形成雙硫橋接二元體(GSSG)。早先 Sun 等人歐洲生物化學期刊 267: 5450-5457(2000)之研究，確定 GSSG 係以  $\delta_{\text{H}}$  3.30 ppm 有雙吸收峰為特徵，該吸收峰係來自  $\beta$ - $\text{CH}_2$  基，如反應圖 5 所示。

反應圖 5. (a)GSH 以及 (b)GSSG 於  $\text{D}_2\text{O}$  之特徵性質子共振吸收







†資料得自 Sun 等人生物化學期刊 267: 5450(2000)。

發明人之  $^1\text{H}$  NMR 研究中，未觀察得 3.30 ppm 區域附近對應於 GSSG 形成或 GSH 結合至金(III)中心之任何雙峰質子吸收。NMR 研究結果指出範例錯合物 1a-1k 於生理相關條件下穩定。結果指出本發明之金(III)錯合物於生理相關條件下穩定。

有關如上節指出索瑞特頻帶的加寬，發明人發現添加丙酮(0.4 毫升)至含錯合物 1a 之 Tris 緩衝液，結果導致索瑞特頻帶完全回復其最初頻帶形狀，而消光係數(512,000 立方分米莫耳<sup>-1</sup>厘米<sup>-1</sup>)並無任何變化。發明人認為觀察得的頻帶加寬可能是由於水性緩衝液中金(III)吡咯紫質錯合物聚集的緣故。

電化學測定。電化學測定係於使用氮氣掃除後，使用 0.1 M 四丁基六氟磷酸銨(TBAP)/乙腈作為支援電解液而於室溫進行。工作電極為玻璃碳(亞托莫坎透(Atomergic Chemetal)V25，幾何面積 0.35 平方厘米)電極，反電極為鉑網。非水性銀/硝酸銀(0.1 M 於乙腈)參考電極容納於另一室內，透過精密燒結之玻璃圓盤而連通至試驗溶液。鐵茂/鐵茂偶用作為內部標準。金(III)吡咯紫質錯合物於非水性介質(二氯甲烷含 0.1 M nBu<sub>4</sub>NPF<sub>6</sub>)之氧化還原性質係藉週期性

電壓計量術測定，分別使用玻璃碳及鉑作為工作電極及對電極。圖5顯示錯合物1a之週期性電壓圖，具有兩個可逆還原波於-1.00及-1.48伏特相對於 $\text{Cp}_2\text{Fe}^{+/0}$ 。表3顯示錯合物1e、1d、1a、1b及1c，亦即肆(對-Y-經取代之苯基)吡咯紫質此處 $Y = -\text{Cl}$ 、 $-\text{Br}$ 、 $-\text{H}$ 、 $-\text{Me}$ 及 $-\text{Meo}$ 之電化學資料。顯然電子撤出基團如 $-\text{Br}$ -及 $-\text{Cl}$ 可促進金(III)吡咯紫質的還原，如錯合物1d及1e之 $E^\circ$ 值較小反映出。具有電子給予基團亦即-甲基及-甲氧基之錯合物1b及1c顯示較大 $E^\circ$ 值，只是較不利於還原。有趣地，還原偶I及II顯示其電化學電位值之平行取代基效應。可經由將還原偶之 $\Delta E^\circ$  ( $\Delta E^\circ = E^\circ_{\text{Y}} - E^\circ_{\text{H}}$ )值相對於彼此於一系列對位取代基作圖說明；獲得具有斜率1.00之直線(未顯示其線圖)。對位取代對電化學電位的影響係藉漢米特(Hammett)交互關係分析檢驗。以 $4\sigma_{\text{p}}$ 值(此處 $\sigma_{\text{p}}$ 為漢米特取代基常數)代入(藉最小平方方法) $\Delta E^\circ$ 值，獲得直線( $R=0.97$ )，但可能略偏離直線。

表3. 含苯基取代基之式(I)錯合物還原電位。

分錄	錯合物	偶 I <sup>a</sup> /V	偶 II <sup>a</sup> /V	$\Delta E_1^{0b}$ /V	$\Delta E_2^{0b}$ /V	$\sigma_{\text{JJ}}^c$	$\sigma_{\text{P}}^d$
1	1e	-0.96	-1.44	+0.44	+0.44	0.22	0.34
2	1d	-0.97	-1.45	+0.03	+0.03	0.23	0.26
3	1a	-1.00	-1.48	0	0	0	0
4	1b	-1.01	-1.49	-0.01	-0.01	0.15	-0.17
5	1c	-1.02	-1.51	-0.02	-0.02	0.23	-0.27

<sup>a</sup>偶I及偶II分別為 $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{p-Y-TPP})]\text{Cl}$ 錯合物之第一及第二還原偶。<sup>b</sup> $\Delta E^\circ = E^\circ_{\text{Y}} - E^\circ_{\text{H}} = \rho_{\text{JJ}}' \sum \sigma_{\text{JJ}}' + \rho_{\text{p}} \sum \sigma_{\text{p}} = 0.00649 \sum \sigma_{\text{JJ}} + 0.0238$

$\Sigma \sigma_p(|\rho_p/\rho_{II}|=3.67)$ ，c參考參考文獻Jiang, X.-K，加速化學研究1997，30，283-289。d參考參考文獻Isaacs, N. S.物理有機化學，朗文(Longman)科技公司，英國艾塞克斯，哈洛市1995年。

結果指出範例金(III)錯合物之電子特性可藉附接不同基團至配位體而「微調」，暗示金(III)錯合物之電子特性經微調而改良其作為人類免疫缺乏病毒-1之反轉錄酶抑制劑或抗腫瘤劑。

### 實施例3. 使用金(III)錯合物之胞毒性研究

實施例3說明使用範例金(III)錯合物1a-1k、2a-2c及3a-3c進行胞毒性研究結果。

金(III)吡咯紫質錯合物之抗癌活性係對若干已經確定之人類癌細胞系進行評比：骨髓細胞原性白血病(HL-60)、肝細胞癌(HepG2)、子宮頸類上皮癌(HeLa)、類上皮癌(KB-3-1)及其多重抗藥性變異株(KB-V1)、鼻咽癌(SUNE1)及其西鉑汀抗藥性變異株(CNE1)。實驗係遵照MTT程序進行(參考Mosmann等人，免疫方法期刊65：55-63(1983))。金(III)吡咯紫質錯合物連同西鉑汀及KAuCl<sub>4</sub>之IC<sub>50</sub>指示於表4a；以及金(III)席夫鹼及雙(吡啶基)羧醯胺錯合物之IC<sub>50</sub>指示於表4b。若干選用之金(III)吡咯紫質錯合物對SUNE1及其西鉑汀抗藥性變異株CNE1之胞毒性情況也顯示於圖7。

表4a 選用之癌細胞系被金(III)吡咯紫質錯合物(a)及金(III)席夫鹼及雙(吡啶基)羧醯胺錯合物(b)之試管內生長抑制作用。

(a)		IC <sub>50</sub> (μM)						
分錄	錯合物	KB-3-1a	HL-60	HepG2	SUNE1	HeLa	KB-V-1	CNE1
1	1a	0.20	0.73	0.34	0.11	0.28	0.12	0.17
2	1b	0.41	1.53	1.11	1.09	0.52	1.15	0.99
3	1c	n.d. <sup>b</sup>	0.88	0.76	0.68	0.66	n.d. <sup>b</sup>	0.77
4	1d	1.29	1.12	1.21	0.74	0.89	0.64	0.98
5	1e	0.50	0.87	0.92	0.34	0.69	0.23	0.41
6	1f	0.87	0.74	1.83	0.68	0.68	0.71	0.73
7	1g	n.d. <sup>b</sup>	1.45	2.31	2.11	3.18	n.d. <sup>b</sup>	1.45
8	1h	0.99	0.75	1.17	1.18	0.96	1.14	2.06
9	1i	0.91	1.24	1.09	0.96	1.06	0.99	1.37
10	1j	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50
11	1k	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50
12	nBu <sub>4</sub> N[AuCl <sub>4</sub> ]	10.3	9.71	11.2	9.94	8.41	n.d. <sup>b</sup>	11.5
13	Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	13.2	16.8	13.5	12.6	11.2	10.2	40.8
14	[Zn(TPP)]	>50	>50	>50	>50	>50	n.d. <sup>b</sup>	>50

(b)		IC <sub>50</sub> (μM)
分錄	錯合物	HeLa
1	2a	11.8
2	2b	9.71
3	2c	16.5
4	3a	33.9
5	3b	26.2
6	3c	10.8
7	Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	11.2

<sup>a</sup>人類口腔類上皮癌 (KB-3-1)；人類骨髓細胞原性白血病 (HL-60)；人類肝細胞癌 (HepG2)；人類鼻咽癌 (SUNE1)；人

類子宮頸類上皮癌(HeLa)；人類口腔類上皮癌(多重抗藥性，KB-V-1)；人類鼻咽癌(西鉑汀抗藥性，CNE1)。

<sup>b</sup>n.d. = 未測定

本研究工作中研究之金(III)吡咯紫質錯合物(錯合物1j及1k除外)顯示相關胞毒性活性，具有IC<sub>50</sub>值落入微米範圍(0.1-15 μM)。其中發現錯合物1a最具有胞毒性，最小IC<sub>50</sub>值為0.1-0.8 μM。

[Au<sup>III</sup>(para-Y-TPP)]Cl錯合物1e、1b、1a、1d及1e (Y=MeO、Me、H、Br及Cl)之胞毒性經檢驗，及胞毒性大半不受電子取代基效應影響。

比較其它金(III)吡咯紫質，錯合物1j及1k實際不具有胞毒性，由其IC<sub>50</sub>值相當大大於50 μM可證。如此係歸因於高度極性親水性基團，讓化合物無法通過疏水性細胞膜。

此項研究中全部金(III)吡咯紫質錯合物對接受研究細胞系之胞毒性皆比西鉑汀更高。顯示於表5，顯示對指定細胞系之西鉑汀IC<sub>50</sub>/金(III)吡咯紫質錯合物IC<sub>50</sub>之比值。

表5. IC<sub>50</sub>比[西鉑汀/金(III)吡咯紫質錯合物]

分錄	化合物	IC <sub>50</sub> 比[西鉑汀/金(III)吡咯紫質錯合物]				
		KB-3-1	HeLa	SUNE1	KB-V1	CNE1
1	1a	17.8	40.0	114.5	25.1	240.2
2	1b	32.1	21.5	11.5	18.4	41.2
3	1c	n.d. <sup>a</sup>	17.0	18.5	n.d. <sup>a</sup>	53.0
4	1d	10.23	12.6	17.0	8.96	41.6
5	1e	26.4	16.2	37.1	20.4	99.5
6	1f	15.1	16.5	18.5	5.62	55.9
7	1g	n.d. <sup>a</sup>	3.52	5.97	n.d. <sup>a</sup>	28.1
8	1h	13.3	11.7	10.7	6.12	19.8
9	1i	14.5	10.56	13.1	7.31	29.8

<sup>a</sup>n.d. = 未測定

表5結果也顯示除了錯合物1i、1j及1k之外，金(III)吡咯紫質錯合物之胞毒性比西鉑汀高至少10倍。發現錯合物1a對西鉑汀抗藥性鼻咽癌(CNE1)細胞系具有顯著胞毒性( $IC_{50} = 0.17 \mu M$ )；錯合物1a與西鉑汀之 $IC_{50}$ 值之比測得為240(參考表5)。金(III)離子對金屬吡咯紫質胞毒性扮演的重要角色反映於 $[Zn^{II}TPP]$ 錯合物對相同一組細胞系的胞毒性比錯合物1a至少大100倍( $IC_{50} > 50 \mu M$ )。經由比較錯合物1a及胞毒性於 $KAu^{III}Cl_4$ 之胞毒性，吡咯紫質配位體顯然於金(III)錯合物胞毒性之促進上扮演顯著角色。結果指出 $KAu^{III}Cl_4$ 用於殺死口腔類上皮癌細胞及鼻咽癌細胞之強度比錯合物1a低約40倍。如前述，金(3+)離子於生理條件下不安定，而還原成為膠體金。不欲受限於任何特定理論，發明人相信吡咯紫質配位體穩定Au(3+)中心，且作為將有毒金屬攜帶至其細胞目標的載體。

其它金(III)吡咯紫質對西鉑汀抗藥性細胞系(CNE1)及西鉑汀敏感性細胞系(SUNE1)之胞毒性係類似錯合物1a之胞毒性； $IC_{50}$ 比(CNE1/SUNE1)比值接近1。結果提示金(III)吡咯紫質錯合物之胞毒性與西鉑汀胞毒性之機轉不同。

#### 實施例4. 金(III)吡咯紫質錯合物與DNA之交互作用

實施例4說明研究結果，該研究係顯示金(III)錯合物1a、1g、1h及1j與DNA之交互作用。

限剪核酸內切酶片段檢定分析：限剪核酸內切酶片段檢定分析用來偵測錯合物1a與DNA可能之交互作用。金屬吡

咯紫質結合至二倍體DNA例如質體DNA (pDR2)，預期佔據限剪酶ApaI之結合位置，因而限制酶DNA之消化。參考Ikeda等人，美國化學會期刊104：296-297(1982)。

圖8顯示於無及有錯合物1a存在之下，於限剪酶消化後pDR2之電泳結果。未經消化之DNA(線道A)顯示一片段於約9.6 kbp對應於圓形DNA。於ApaI消化(線道B)後，觀察得三帶分別對應於6.6、4.4及2.0 kbp。於錯合物1a以1:1比(錯合物1a:DNA bp)存在下，觀察得DNA消化受到抑制(線道D)。於錯合物1a(線道C)(錯合物1a:DNA=0.1:1)之較低莫耳濃度時，觀察得部分DNA消化。供比較用存在有ethidium溴化物(典型鑲嵌劑；線道F)以及赫司特(Hoechst)33342(小凹槽結合劑；線道H)的並存，結果導致DNA消化完全受抑制。結果提示錯合物1a結合至DNA，且抑制被限剪核酸內切酶進行酶消化。

吸收滴定。已經藉UV-vis光譜術研究金(III)吡咯紫質與二倍體DNA的結合交互作用。如圖9所示，添加小牛胸腺DNA(0-5  $\mu$ M)至錯合物1a於含2% DMSO之Tris緩衝液，誘生索瑞特頻帶之顯著減色(44%)，伴隨有5奈米之小向紅位移。對於520奈米之Q頻帶，也觀察得40%減色及6奈米向紅位移。值得注意者為頻譜變化顯示於290奈米及425奈米有明確等吸光點，於整個光譜滴定實驗過程中維持不變。

圖9之插圖A顯示 $I_0/I$ 對 $[ctDNA]/[1a]$ 作圖，此處 $A_0$ 及 $A$ 分別為錯合物1a於無及有ctDNA存在下之索瑞特頻帶吸收。如插圖A所示， $A_0/A$ 值顯示線性度隨著 $[ctDNA]/[錯合物1a]$ 比由0

升高至1.0而增加；當[ctDNA]/[錯合物1a]之比大於1.0時，未見索瑞特頻帶進一步減色。此項結果指示結合化學計算學(錯合物1a：鹼基對數目)為1：1。

錯合物1a對小牛胸腺DNA之特有結合常數( $K_b$ )係根據方程式1測定：

$$\frac{[\text{ctDNA}]}{\Delta\varepsilon_{\text{ap}}} = \frac{[\text{ctDNA}]}{\Delta\varepsilon} + \frac{1}{(\Delta\varepsilon \times K_b)} \quad (1)$$

此處[ctDNA]為小牛胸腺DNA濃度， $\Delta\varepsilon_{\text{ap}} = |\varepsilon_A - \varepsilon_B|$  其中  $\varepsilon_A = A_{\text{abc}}/[\text{錯合物}]$  以及  $\Delta\varepsilon = |\varepsilon_B - \varepsilon_F|$ ， $\varepsilon_B$ 及 $\varepsilon_F$ 分別對應於DNA結合之金(III)吡咯紫質以及自由態金(III)吡咯紫質之消光係數。使用索瑞特頻帶之吸光比資料，[ctDNA]/ $\Delta\varepsilon_{\text{ap}}$  vs [ctDNA]作圖獲得直線( $R=0.99$ )，斜率= $9.15 \times 10^{-6}$ ，對應於 $\Delta\varepsilon$ 值之倒數。由作圖的節點，測得錯合物1a對小牛胸腺DNA之特有結合常數為 $(2.79 \pm 0.34) \times 10^6$ 立方分米莫耳 $^{-1}$ 。

同理，錯合物1g、1h及1j當與小牛胸腺DNA交互作用時也產生可相媲美的等吸光頻譜變化(資料未顯示)。觀察得索瑞特頻帶之顯著減色(25-50%)以及向紅位移(3-6奈米)。基於 $A_0/A$  vs [ctDNA]/[金屬錯合物]作圖，金(III)錯合物與鹼基對數目之結合比也發現為1：1。再度使用方程式1，測定其對小牛胸腺DNA之特有結合常數，數值列表於表6。

表6. 經選定之金(III)吡咯紫質錯合物類別於Tris緩衝液於各種溫度之DNA結合參數



錯合物	溫度, K	特有結合常數( $K_b$ ), 立方分米莫耳 <sup>-1</sup>	減色, %
1a	292.8	$2.79 \times 10^6$	53.4
	298.0	$2.14 \times 10^6$	50.3
	302.3	$1.98 \times 10^6$	49.5
	307.2	$1.55 \times 10^6$	47.1
	311.6	$1.35 \times 10^6$	46.3
	316.5	$0.94 \times 10^6$	43.4
	321.9	$0.82 \times 10^6$	42.5
1g	291.8	$0.73 \times 10^6$	18.2
	297.6	$0.58 \times 10^6$	18.0
	301.4	$0.47 \times 10^6$	16.5
	306.1	$0.42 \times 10^6$	10.1
	311.7	$0.34 \times 10^6$	8.7
1h	291.4	$4.14 \times 10^6$	30.1
	296.8	$2.73 \times 10^6$	29.2
	302.2	$1.51 \times 10^6$	28.0
	305.5	$1.27 \times 10^6$	26.1
	311.2	$0.96 \times 10^6$	24.4
1j	291.3	$0.49 \times 10^6$	47.8
	297.2	$0.36 \times 10^6$	45.9
	303.7	$0.24 \times 10^6$	43.1
	307.2	$0.21 \times 10^6$	41.1
	311.9	$0.19 \times 10^6$	40.6

本研究工作所得特有結合常數可媲美 Lugo-Ponce 等人，配位化學綜論 208：169-191(2000)；Tjahjono 等人；無機生物化學期刊 85：219-228(2001)；及 Han 等人，無機生物化學期刊 91：230-236(2002) 揭示之若干相關金屬吡咯紫質錯合物之報告值( $10^4$ 至 $10^6$ 立方分米莫耳<sup>-1</sup>)。

於使用硫酸十二烷酯鈉(0-5  $\mu$ M)替代 DNA 之對照實驗中，觀察得錯合物 1a 及 1g 之類似 UV-vis 頻譜變化(48%減色及 6 奈米向紅位移)(資料未顯示)。此項結果提示以小牛胸腺 DNA 觀察得之頻譜變化可能係由於陽離子性金屬錯合物與

多陰離子性DNA磷酸主鏈之靜電結合。參考Neidle, S, DNA結構與辨識；牛津大學出版社：牛津1994；74-79。但當錯合物1h及1j使用硫酸十二酯鈉滴定时，觀察得索瑞特頻帶微小減色(<10%)，提示金錯合物之其它結合模比與DNA主鏈靜電結合模式更重要。

溫度對特有結合常數之影響係使用凡斯霍夫(van's Hoff)方程式(2)研究：

$$\ln K = -(\Delta H/RT) + (\Delta S/R)$$

$\ln K$  vs  $1/T$ 之線性圖獲得DNA結合交互作用之熱力學參數。如表7所示，DNA與錯合物1a、1g、1h及1j之結合交互作用顯示可媲美之負 $\Delta H$ 值(-7至-13千卡莫耳<sup>-1</sup>)，指示有利的焓變化。

表7. 錯合物1a、1g、1h及1j對小牛胸腺DNA之結合之熱力學參數

分錄	錯合物	$\Delta G^\circ(298\text{ K})$	$\Delta H^\circ$	$\Delta S^\circ$
1	1a	-8.7±0.4	-8.0±0.5	+2.4±0.3
2	1g	-7.8±0.5	-7.0±0.4	+2.7±0.7
3	1h	-8.2±0.7	-13.8±1.2	-17.3±0.7
4	1j	-7.5±0.4	-8.5±0.6	-3.4±0.5

但表7顯示金(III)錯合物中 $\Delta S$ 值有顯著變化。在錯合物1a及1g而言，DNA結合反應分別關聯小的正熵變化，分別為+2.4及+2.7卡莫耳<sup>-1</sup>K<sup>-1</sup>，符合錯合物結合DNA時病症增加。另一方面DNA結合錯合物1h及1j，產生負熵變化(-17.3卡莫耳<sup>-1</sup>K<sup>-1</sup>(錯合物1h)，-3.4卡莫耳<sup>-1</sup>K<sup>-1</sup>(錯合物1j))，指示結合至

DNA時自由度喪失。此項結合提示對兩組金(III)錯合物預期有不同的結合膜。

黏度評估。經由檢驗DNA結合金屬吡咯紫質時，DNA之黏度變化，可進一步研究金(III)吡咯紫質之結合交互作用。若金屬吡咯紫質係藉鑲嵌結合至DNA，則將由於配合鑲嵌劑需要將鹼基對以及螺旋狀主鏈的解開，結果導致DNA螺旋的鏈延長、解開且變僵硬。

基於Cohen及Eisenberg (Cohen等人，生物聚合物8: 45-55 (1969))之理論，黏度資料係以 $(\eta / \eta_0)^{1/3}$ 相對於結合比， $r=[\text{DNA}]/[\text{錯合物 1a}]$ 作圖。圖形顯示於圖10。供比較用，ethidium溴化物(鑲嵌劑)及赫司特33342(微小切槽結合劑)之黏度作圖也顯示於圖10。如所預期，鑲嵌劑亦即ethidium溴化物經由增加水力學長度而提高DNA黏度。但錯合物1a及赫司特33342不會延長DNA，對DNA黏度不會產生可察覺的變化。結果提示錯合物1a無法透過鑲嵌而與DNA交互作用。

凝膠移動性位移檢定分析。經由凝膠移動性位移檢定分析，獲得錯合物1a與DNA非交互作用鑲嵌結合之額外證據。於瓊脂凝膠電泳，細長DNA比自由態DNA也具有較低移動性。圖11顯示凝膠移動性位移檢定分析結果。100-bp PCR(單獨或使用錯合物1a、赫司特33342 (H33342)及ethidium溴化物處理)經混合且藉瓊脂糖凝膠電泳分析。顯然使用H33342(線道C)及錯合物1a(線道D及E)處理之DNA樣品顯示與未經處理之100-bp PCR類似的移動性。相反地

線道B顯示尾端效應，尾端效應係由於ethidium溴化物與DNA鹼基對的交互鑲嵌。結果提示錯合物1a無法藉鑲嵌結合至DNA。

#### 實施例5. 細胞凋亡研究

實施例5說明使用範例金(III)錯合物1a進行細胞形態學研究結果。

共焦顯微鏡實驗。使用掃描共焦顯微術檢驗細胞形態，辨識細胞死亡類型。細胞凋亡早期特徵為形成凋亡體，維持細胞膜完整性並無細胞溶解。相反地細胞壞死的特徵為細胞溶解，內部細胞成分如DNA暴露出。使用適當染色劑(ethidium溴化物(EB)用於DNA，以及吖啶橙(AO)用於細胞膜)，藉雷射共焦顯微術可區別正常細胞、壞死細胞及凋亡細胞。參考Chan等人，無機化學41：3161-3171(2002)。

細胞圖顯示於圖12。HeLa細胞與錯合物1a共同培養15小時後，觀察得活細胞及凋亡細胞，若干細胞可見數個凋亡體(以圓圈標示)。要緊地，並未因細胞壞死而暴露出細胞DNA。

流動細胞計量術：金(III)吡咯紫質誘生HeLa細胞系之細胞凋亡，進一步利用流動細胞計量術檢驗。於細胞凋亡的早期，細胞喪失細胞膜磷脂質的對稱性，但細胞膜的完好仍然維持。帶負電的磷脂質稱做磷脂基絲胺酸PS(位於胞質膜的內側)變成暴露於細胞表面。磷脂結合蛋白質接合素(annexin)V(結合時發綠光)偏好對PS產生高度結合。因此染色細胞喪失且形態其DNA水解前，凋亡細胞可藉接合素V染色。另一方面，壞死細胞的DNA及PS皆暴露出。此種情

況下，可使用 propidium 碘化物 (PI) 結合時發紅光) 來選擇性染色裸露的 DNA。因此於加入兩種染色計畫可區別凋亡細胞及壞死細胞二者。對凋亡細胞只有接合素 V 才可染色；對壞死細胞而言，接合素 V 及 PI 二者皆可染色。

本實驗中，接合素 V 及 PI 添加至細胞培養，該細胞培養已經暴露於錯合物 1a (6 及 15 小時) 或史朝洛包靈 (straurosporine)(15 小時)。供比較用，於無錯合物 1a 及史朝洛包靈存在下，進行對照細胞培養實驗。結果(圖 13a)顯示於無任何藥物存在下，大於 90% 細胞未藉接合素 V (x 軸發光) 或 PI (y 軸發光染色)，指示超過 90% 族群為活細胞。使用錯合物 1a 或史朝洛包靈處理時，接合素 V 之發光幅度加強，指示開始細胞凋亡。藉錯合物 1a 誘生的細胞凋亡之進行係藉監視接合素 V 發光幅度加以觀察。圖 13 結果顯示於培養 6 小時 (13c, g) 後 13%，24% 細胞進行細胞凋亡；而培養 15 小時 (13d, h) 後 57% 透過細胞凋亡而死亡。於流動細胞計量實驗中觀察得壞死細胞小於 1%。

與誘生細胞凋亡的機轉無關，共焦顯微術及流動細胞計量術研究結果顯示本發明之範例金(III)錯合物錯合物 1a 可誘生 HeLa 細胞凋亡。不欲受特定理論所限，相信使用錯合物 1a 處理癌細胞，「切開」細胞 DNA，造成氧化壓力。結果指出金(III)錯合物可用於癌細胞誘生的細胞凋亡。

#### 實施例 6. 藉金(III)吡咯紫質及其衍生物抑制 HIV-反轉錄酶

實施例 6 說明範例金(III)錯合物 1a、1j、1k、2a 及 3c 可用於抑制 HIV-1 反轉錄酶活性之研究。

HIV-1反轉錄酶活性係藉ELISA方法測定(參考Eberle等人, 病毒方法期刊, 40: 347-356(1992)), 該方法係將酶與毛地黃(digoxigenin)標記之去氧尿苷-5'-三磷酸(dUTP)以及生物素標記之類似物, 於反轉錄期間, 始於樣板/引子雜交體poly(A)·oligo(dT)<sub>15</sub>共同培養。反轉錄後, 新合成的DNA制動於經過鏈絲菌抗生物素塗覆之ELISA孔, 經毛地黃標記之dUTP之結合係藉化學發光法檢定分析。例如使用錯合物1j (1.3微升5 mM備用溶液)溶解於TBS於37°C處理HIV-1反轉錄酶於溶解緩衝液(2奈克, 128.7微升), 培養30分鐘後可產生顯著反轉錄酶活性抑制(約95%)。供比較用, 不含藥物的對照組具有0%抑制。研究結果顯示於表8。

表8. 範例金(III)錯合物對HIV-1 RT及人肺纖維母細胞系之抑制濃度(IC<sub>50</sub>)

分錄	錯合物	IC <sub>50</sub> /μM(±SE) <sup>a</sup>	
		HIV-1 RT	CCD-19Lu
1	1a	28.4±1.8	0.91±0.21
2	1j	0.31±0.05	>100
3	1k	0.57±0.09	>100
4	2a	0.33±0.03	38.6±4.43
5	3c	0.47±0.09	43.9±3.25
6	AZT	0.069±0.008	n.d.

<sup>a</sup>以至少三次測定的平均±標準差表示。<sup>b</sup>n.d.=未測定。HIV-1 RT=HIV-1反轉錄酶; CCD-19Lu=人肺纖維母細胞。

錯合物1j之HIV-1 RT抑制活性發現與劑量相關, %抑制

(濃度): 95%(50  $\mu\text{M}$ ), 76%(10  $\mu\text{M}$ ), 67%(5  $\mu\text{M}$ ), 58%(1  $\mu\text{M}$ ), 53%(0.5  $\mu\text{M}$ ), 及 38%(0.1  $\mu\text{M}$ )。IC<sub>50</sub>值評估為  $0.31 \pm 0.05 \mu\text{M}$  (表 8 分錄 1)。錯合物 1k 之抗 HIV RT 活性也藉 ELISA 方法檢驗, 獲得 IC<sub>50</sub> 值 ( $0.57 \pm 0.09 \mu\text{M}$ )。供比較用發現自由態鹼吡咯紫質 (亦即  $[\text{H}_2\text{TMPyP}]^{4+}$  及  $[\text{H}_2\text{TPPS}]^{4+}$ ) 比對應金屬錯合物類似物分別為錯合物 1j 及 1k 具有實質較低 HIV-1 RT 抑制活性。同理, 表 8 結果顯示錯合物 1a、2a 及 3c 也是 HIV-1 RT 的有效抑制劑, 其 IC<sub>50</sub> 測量值分別為  $28.4 \pm 1.8 \mu\text{M}$  (1a)、 $0.33 \pm 0.03 \mu\text{M}$  (2a) 及  $0.47 \pm 0.09 \mu\text{M}$  (3c)。

鋅錯合物  $[\text{Zn}^{\text{II}}(\text{PP})]$  ( $\text{H}_2\text{PP}$  = 原吡咯紫質) 報告於試管內抑制 HIV-1 RT 活性 (參考 Argyris 等人, 生物化學期刊 274: 1549 (1991)), IC<sub>50</sub> 測量值 (ELISA 檢定分析) 為  $4.98 \pm 0.93 \mu\text{M}$ 。基於表 8 所示 IC<sub>50</sub> 值,  $[\text{Zn}^{\text{II}}(\text{PP})]$  對 HIV-1 RT 之抑制效果比本發明之金 (III) 錯合物 1j、1k、2a 及 3c 至少低十倍。

圖 14 顯示一系列金錯合物進行比較研究結果。經由固定藥物濃度於 6  $\mu\text{M}$ , 藉 ELISA 方法評估化合物之 HIV-1 RT 抑制活性。對錯合物 1j-k 及 2a 觀察得高達約 70% HIV-1 RT 抑制, 而於相同條件下發現錯合物 3c 影響 64% 反轉錄酶抑制。圖 14 資料顯示因自由態鹼配位體大部分對 RT 抑制不具活性 (小於 30%), 故存在有金原子對觀察得之抗 HIV-1 RT 活性具有關鍵重要性。圖 14 結果也顯示發現  $\text{KAu}^{\text{III}}\text{Cl}_4$  獲得 HIV-1 RT 活性之 48% 抑制, 比較錯合物 1j、1k、2a 及 3c 達成 70% 抑制。結果指出螯合  $\sigma$ -施體配位體強力影響金 (III) 錯合物之抗 HIV RT 活性。此外比較金 (I) 錯合物  $[(\text{Ph}_3\text{P})\text{Au}^{\text{I}}\text{Cl}]$ , 錯合物

1j、1k、2a及3c為試管內更強力的HIV RT抑制劑，使用 $[(\text{Ph}_3\text{P})\text{Au}^{\text{I}}\text{Cl}]$ (6  $\mu\text{M}$ 濃度)處理酶只能產生43%抑制。如前述， $[\text{Zn}^{\text{II}}(\text{PP})]$ 為較無效的HIV-1 RT抑制劑(比較 $[\text{Zn}^{\text{II}}(\text{PP})]$ 之RT抑制53%與相同條件下，錯合物1j、1k、2a及3c之RT抑制70%)。同理，發現鋅錯合物 $[\text{Zn}^{\text{II}}(\text{TMPyP})]\text{Cl}_4$ 之活性只能產生32% RT抑制，比較錯合物1j於6  $\mu\text{M}$ 濃度約為70%。結果指出金(III)原子於反轉錄酶抑制活性扮演關鍵性角色。

金(III)錯合物對正常細胞之急性胞毒性係使用人肺纖維母細胞(CCD-19Lu)作為模式細胞系進行評比。於各個金錯合物劑量之細胞存活百分比係藉MTT檢定分析測定，毒性表現顯示於圖15。結果提示，錯合物1j及1k對纖維母細胞不具有顯著急性胞毒性，於藥物濃度高達96  $\mu\text{M}$ [為其HIV-1 RT抑制之 $\text{IC}_{70}$ 值(約6  $\mu\text{M}$ )之16倍]時，登錄細胞存活大於90%。但當於96  $\mu\text{M}$ 濃度使用錯合物2a及3c處理纖維母細胞時，觀察得細胞存活率10%。於2  $\mu\text{M}$ ，錯合物1a產生嚴重胞毒性，觀察得90%細胞死亡(參照HIV-1 RT抑制 $\text{IC}_{50}=28$   $\mu\text{M}$ )。

錯合物1j基於其溶液穩定性以及急性胞毒性選用於進一步檢驗。單獨錯合物1j以及組合AZT之HIV-1 RT抑制活性顯示於圖16。結果顯示當單獨使用錯合物1j(10、50及100 nM)或AZT(8 nM)處理HIV-1 RT時，只觀察得17-39%酶抑制。但當錯合物1j組合AZT時，觀察得用於HIV-1 RT抑制的顯著加成效果。經由採用「錯合物1j(100 nM)+AZT(8 nM)」組合，可達成高達68%酶抑制。 $\text{IC}_{70}$ 結果顯示，錯合物1j與AZT



組合比單獨使用錯合物 1j，可降低金(III)吡咯紫質之劑量需求達 60 倍。不欲受特定理論所限，相信由錯合物 1j 與 AZT 所達成的協同增效 HIV-1 RT 抑制效果係來自於金(III)吡咯紫質結合至酶活性位置附近之某些位置。例如  $[Zn^{II}(PP)]$  媒介之 HIV-1 RT 抑制據報告係與金屬吡咯紫質結合至連結領域序列 398-407 (WETWWTEYWQ) 相關(參考 Argyris 等人，生物化學期刊 274 : 1549(1991))。於此項研究工作，UV-vis 吸收滴定研究顯示錯合物 1j 於水性緩衝介質強力結合至 WETWWTEYWQ 序列。添加胜肽 (0-5  $\mu$ M) 至錯合物 1j 產生等吸光光譜變化(等吸光點位於 314、417、508 及 532 奈米)，索瑞特頻帶有顯著減色(58%)以及小的向紅位移(7 奈米)。使用索瑞特頻帶之吸光比資料， $[胜肽]/\Delta\epsilon_{ap}$  相對於  $[胜肽]$  之線性作圖 ( $R=0.99$ )，獲得特有結合常數 ( $K_b$ ) =  $(7.9 \pm 0.7) \times 10^4$  立方分米莫耳<sup>-1</sup> 於 292 K。基於 UV-vis 吸收滴定研究，對  $[Zn^{II}(PP)]$ -WETWWTEYWQ 交互作用獲得可相媲美的  $K_b$  值 [ $(1.3 \pm 0.1) \times 10^5$  立方分米莫耳<sup>-1</sup> 於 292 K]。基於 UV-vis 光譜滴定，未觀察得錯合物 1k 與胜肽顯著結合。假設錯合物 1k 也是 HIV-1 RT 有效抑制劑，則對 WETWWTEYWQ 之結合親和力不良，提示錯合物為其它結合位置。

本發明並非受實施例揭示之特定具體實施例所限，實施例僅供舉例說明本發明之若干方面，任何於功能上相當之具體實施例皆係落入本發明之範圍。確實除了此處顯示及說明之外，本發明之多項修改對熟諳技藝人士將顯然自明且意圖落入隨附之申請專利範圍。

引用多個參考文獻，該等參考文獻之全部揭示內容係以引用方式併入此處。

### 【圖式簡單說明】

圖1顯示(a)自由態鹼 $H_2TPP$ 及(b)錯合物1a與二氯甲烷之紫外光-可見光光譜。

圖2顯示 $[Au(TPP)]ClO_4$ 亦即錯合物1a之過氯酸鹽類似物之ORTEP圖，帶有原子編碼圖。氫原子及過氯酸根離子被刪除以求清晰。熱橢球係以30%機率繪圖。

圖3顯示錯合物1a ( $2.5 \mu M$ )於Tris緩衝液/甲烷(19:1)之紫外光-可見光光譜。

圖4顯示(a)時間=0小時以及(b)時間=48小時，錯合物1a ( $2.5 \mu M$ )於2 mM GSH Tris緩衝液/乙腈(19:1)之紫外光-可見光光譜。

圖5顯示錯合物1a於乙腈(0.1 M  $Bu_4NPF_6$ )記錄得之週期性電壓圖。工作電極=玻璃碳，反電極=鉑線，參考電極=銀/硝酸銀(0.1 M於乙腈)，掃描速率= $200 mVs^{-1}$ 。

圖6顯示對一系列對位取代錯合物1c、1b、1a、1d及1e之線性雙參數漢米特交互關係( $R=0.99$ ，斜率=1.00)。

圖7顯示(a)人鼻咽癌(SUNE1)以及(b)其西鉑汀抗藥性變異株(CNE1)對錯合物1a、1f及1i之胞毒性作圖。線圖顯示遞增量之金(III)錯合物培養時比對照組之生長百分比。供比較用也顯示 $KAu^{III}Cl_4$ 及 $Pt(NH_3)_2Cl_2$ (西鉑汀)之曲線。

圖8顯示於無(線道A)以及有(線道C-H)各種以[化合物]/[bp]標記之化合物存在下，進行限剪酶(ApaI)消化之

後，9.4 kbp質體(pDR2)於1% (w/v)瓊脂糖凝膠電泳。線道B為未經消化之DNA。

圖9顯示錯合物1a於Tris緩衝液之UV-vis光譜變化，ctDNA濃度遞增：(a)r=0，(b)r=0.21，(c)r=0.41，(d)r=0.62，(e)r=0.83，(f)r=1.03，(g)r=1.24及(h)r=1.45於292.8 K。插圖： $A_0/A$ 相對於 $[DNA]/[錯合物1a]$ 以及 $[ctDNA]/\Delta\epsilon_{ap}$  vs  $[ctDNA]$ 作圖。吸光比係於410奈米監測。

圖10顯示於ethidium溴化物(●)、赫司特33342(▲)或錯合物1a(□)存在下，小牛胸腺DNA之相對黏度，以結合比(r)之函數表示。

圖11顯示於無(線道A及F)以及有ethidium溴化物(線道B)、赫司特33342(線道C)及錯合物1a(線道D及E，以 $[化合物]/[bp]$ 標記)存在下，100-bp DNA於2% (w/v)瓊脂凝膠之凝膠電泳，顯示DNA ( $15.2 \mu M bp^{-1}$ )之移動性。

圖12顯示於(a)0小時至(b)15小時之時間間隔，使用錯合物1a ( $0.5 \mu M$ )處理之HeLa細胞之雷射共焦顯微攝影照片。凋亡細胞以圈號表示。

圖13顯示使用流動細胞計量術：接合素V/propidium碘化物檢定分析進行HeLa之細胞凋亡研究結果。(a)DMSO, 1.5% (v/v), 15小時；(b)史朝洛包靈, 15小時；(c)錯合物1a, 6小時及(d)錯合物1a, 15小時之流動細胞計量結果。細胞數目相對於接合素V發光之對應作圖顯示於13(e)-(h)。

圖14顯示HIV-1 RT抑制研究結果，該研究係比較錯合物1j、1k、2a及3c與其對應自由態配位體 $[H_2TMPyP]^{4+}$ ，

[H<sub>2</sub>TPPS]<sup>4-</sup>、H<sub>2</sub>(Salen)及H<sub>2</sub>(N<sub>4</sub>)之活性。圖14也包括Au<sup>III</sup>Cl<sub>4</sub>、[(Ph<sub>3</sub>P)Au<sup>I</sup>Cl]、Zn<sup>II</sup>(PP)及[Zn<sup>II</sup>TMPyP]<sup>4+</sup>之比較性HIV-1 RT抑制資料。金屬錯合物及自由態配位體濃度為6 μM。

圖15顯示錯合物1a、1j、1k、2a及3c對人肺纖維母細胞系(CCD-19Lu)之胞毒性作圖，以細胞存活百分比相對於log[金(III)錯合物濃度]作圖。

圖16顯示單獨使用錯合物1j以及組合AZT之HIV-1 RT抑制研究結果。

伍、中文發明摘要：

揭示吡咯紫質、席夫鹼(Schiff-bases)、雙(吡啶基)羧醯胺及雙(吡啶基)磺醯胺之金(III)錯合物用作為抗腫瘤劑及抗HIV劑之用途。

陸、英文發明摘要：

[00204] Disclosed is the use of gold(III) complexes of porphyrins, Schiff-bases, bis(pyridyl)carboxamides and bis(pyridyl)sulfonamides as anti-tumor and anti-HIV agents.

拾壹、圖式：

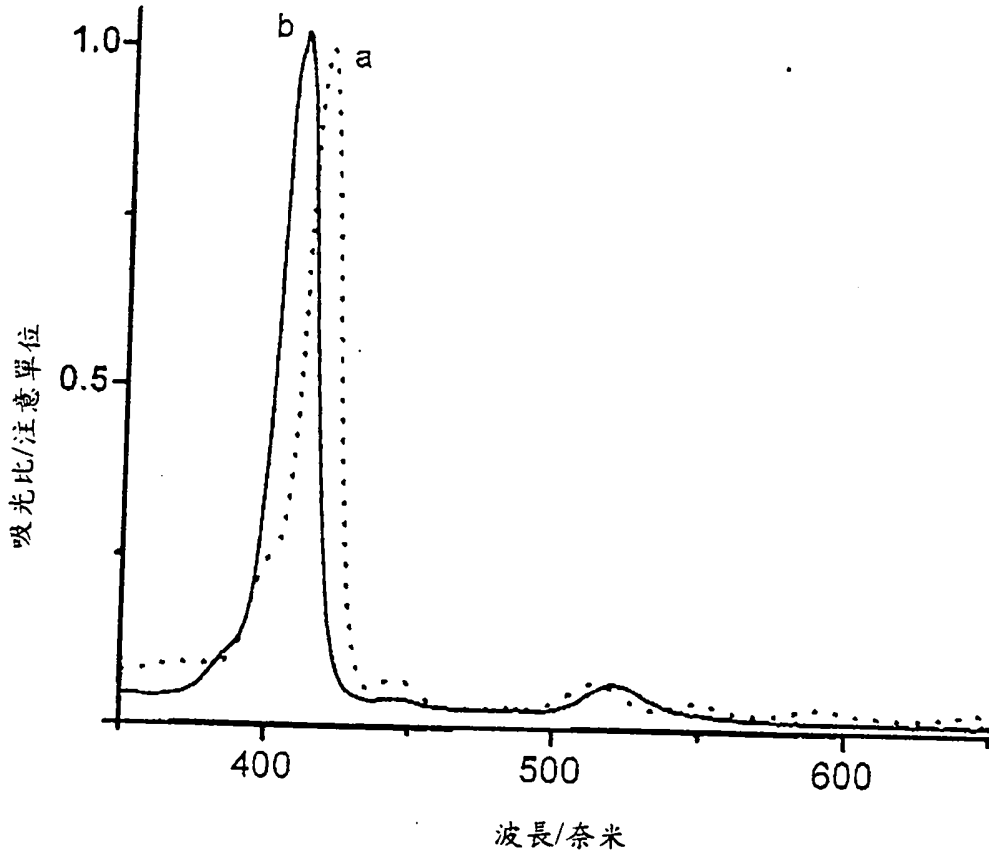


圖 1

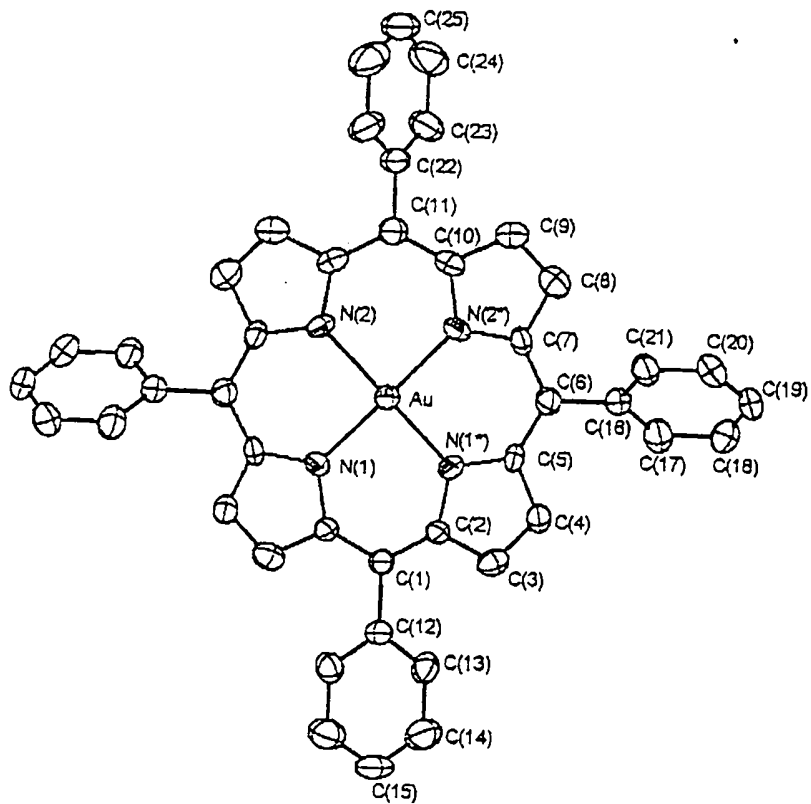


圖 2

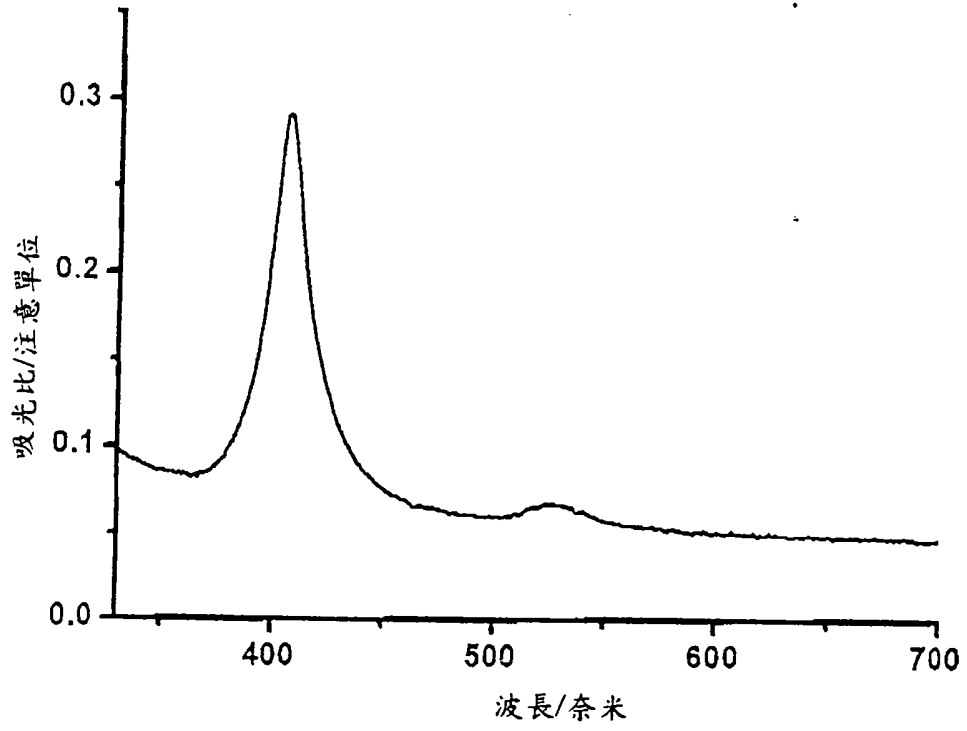


圖 3



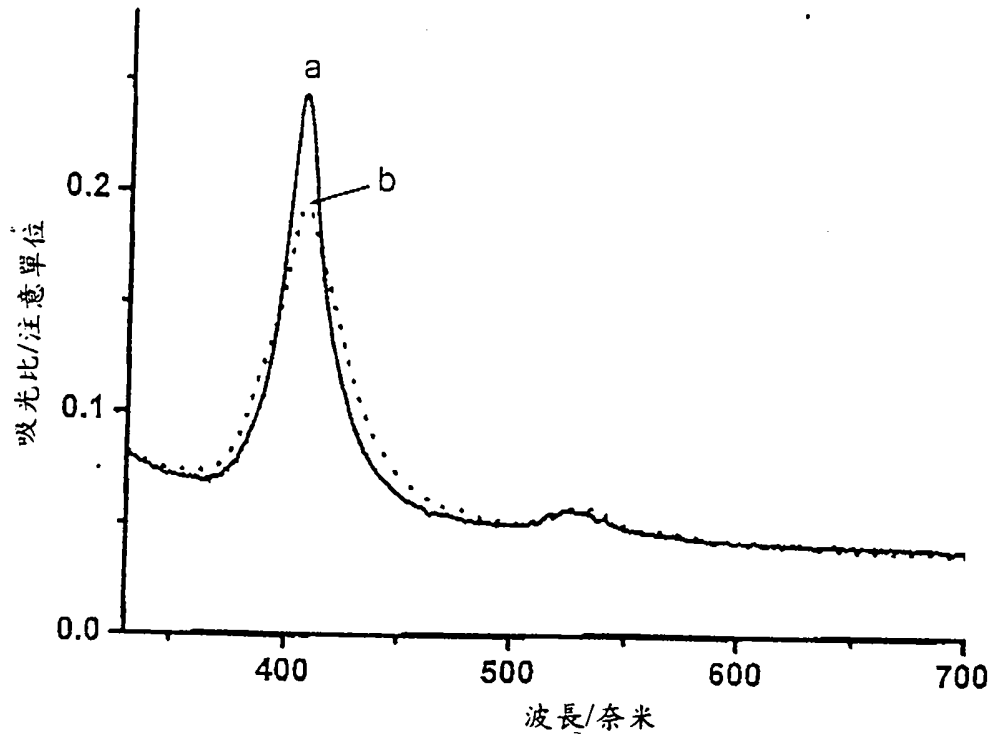


圖 4

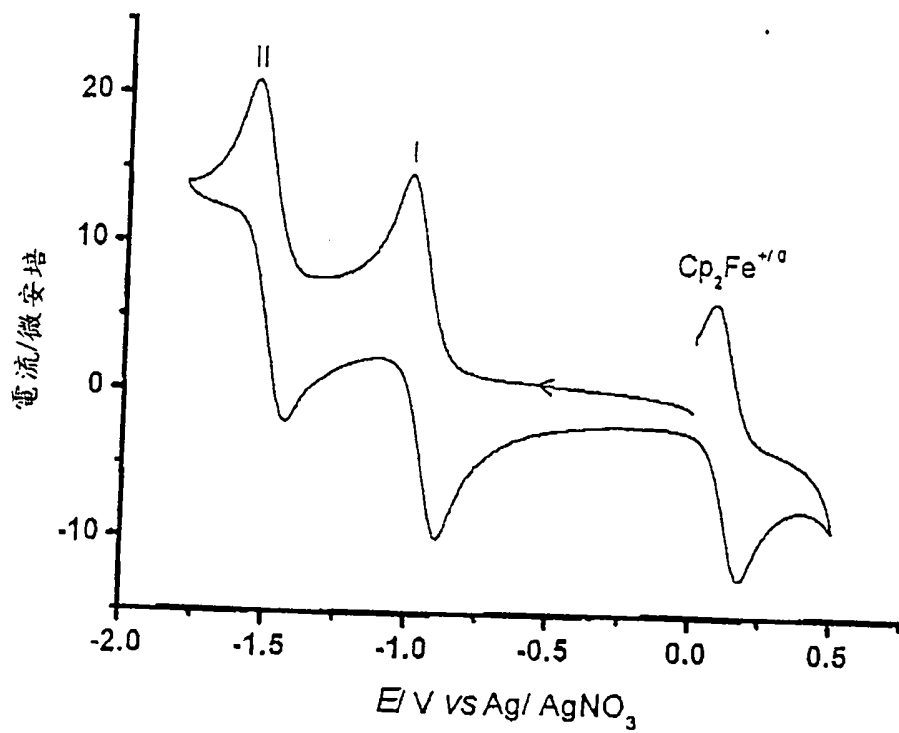


圖 5

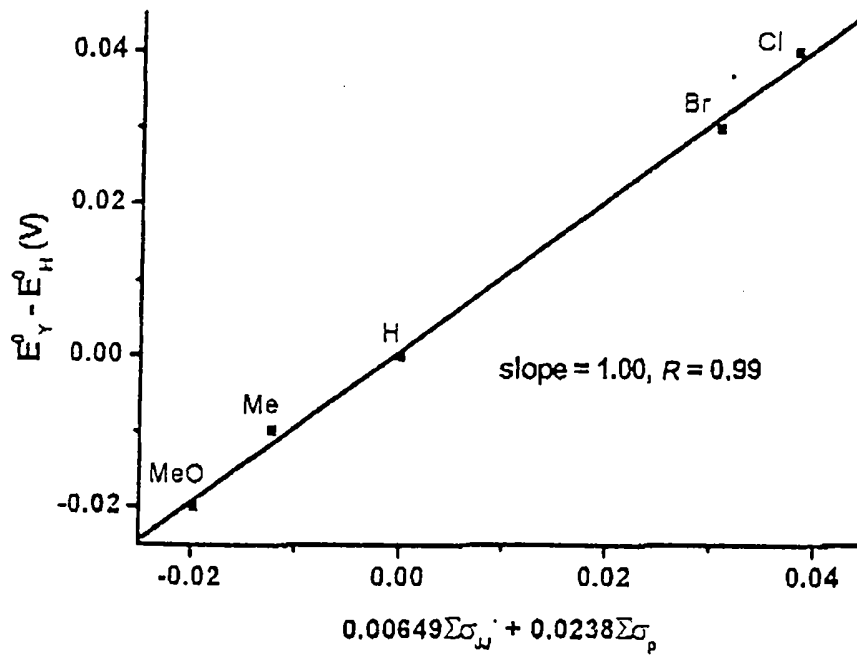


圖 6

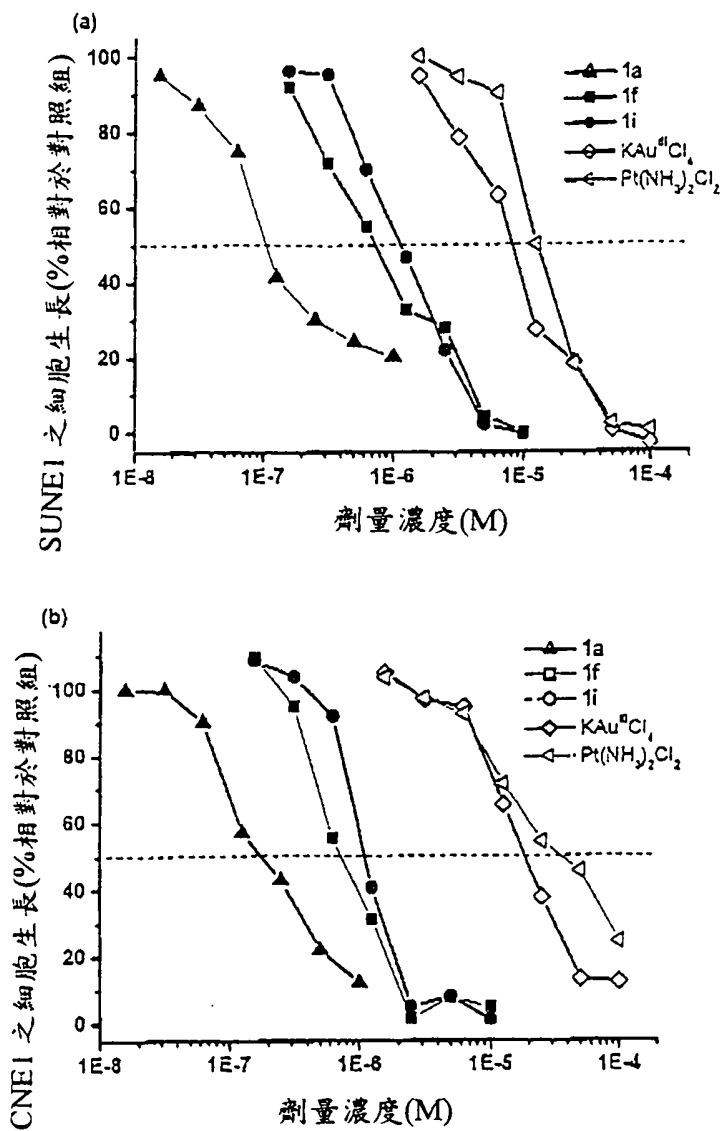


圖 7

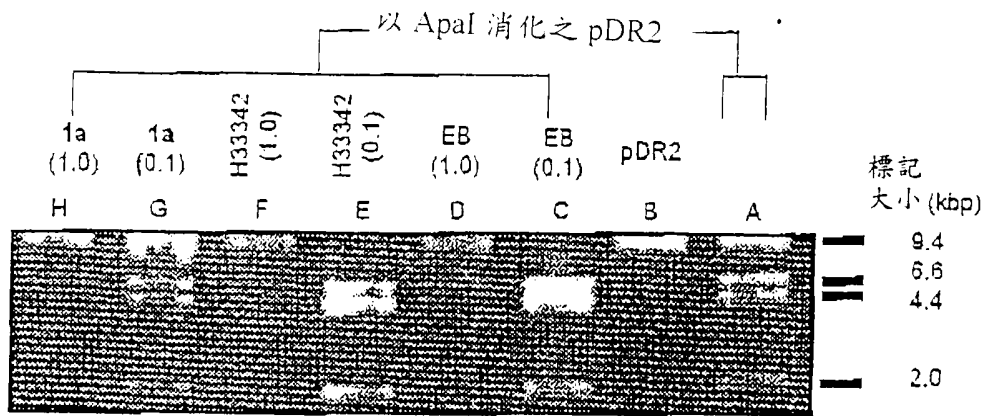


圖 8

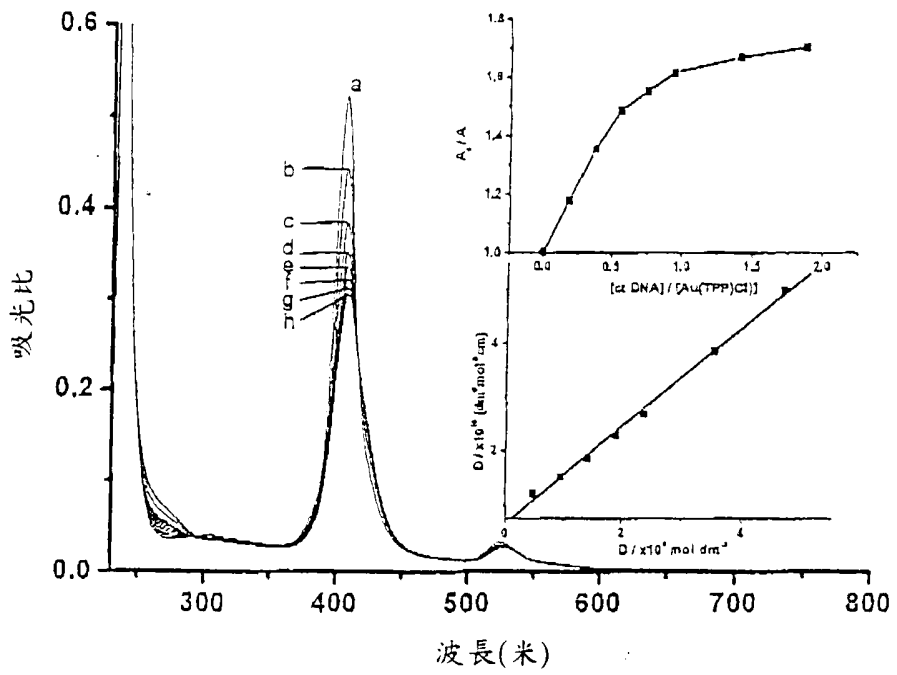


圖 9

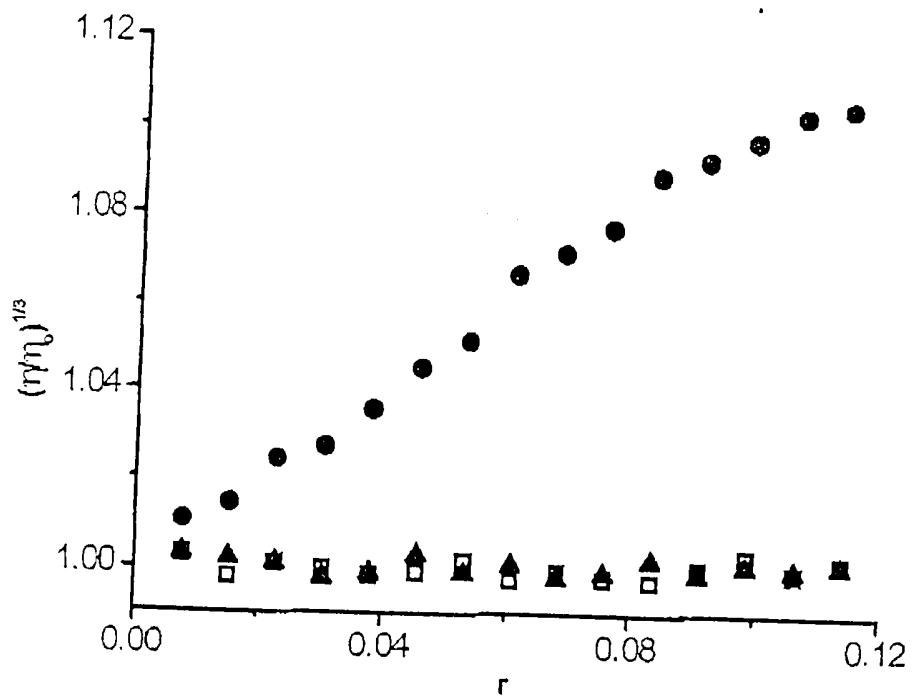


圖 10

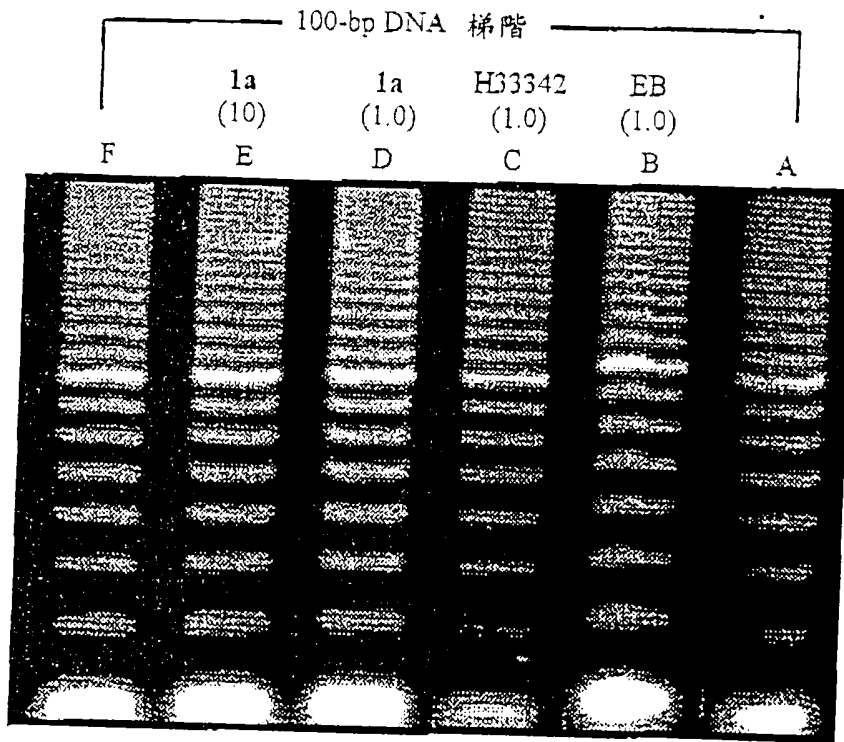


圖 11



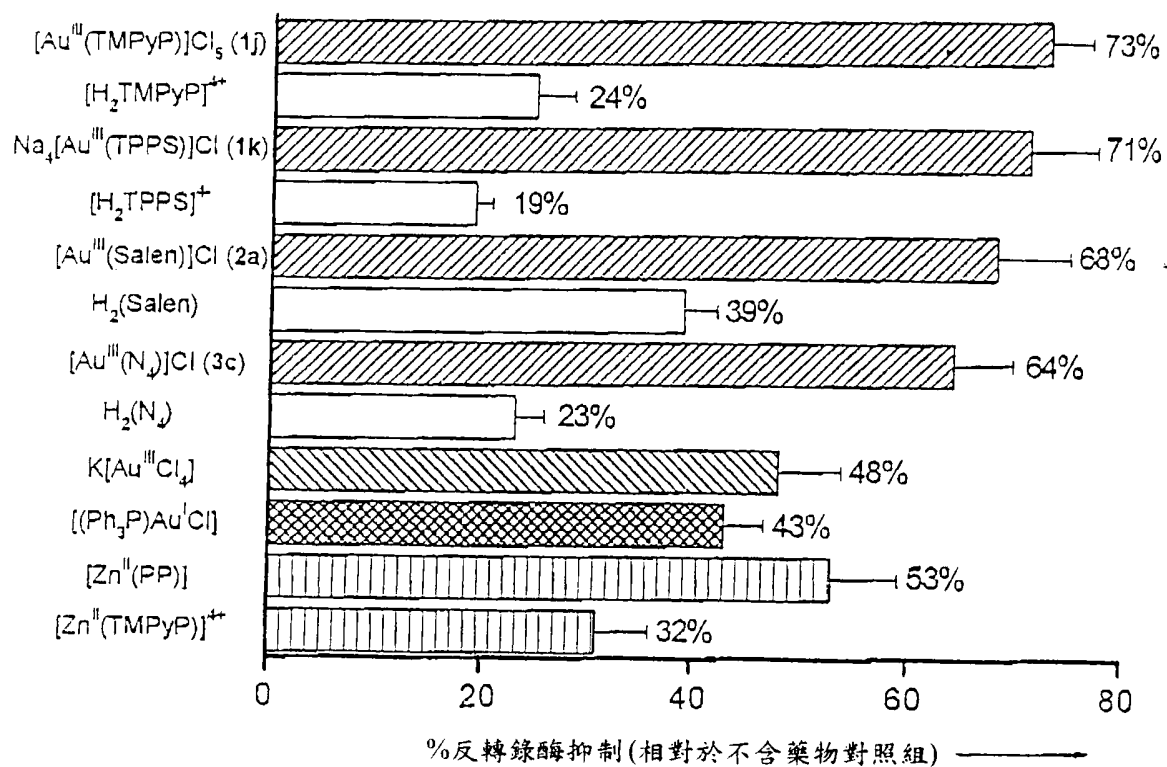


圖 14

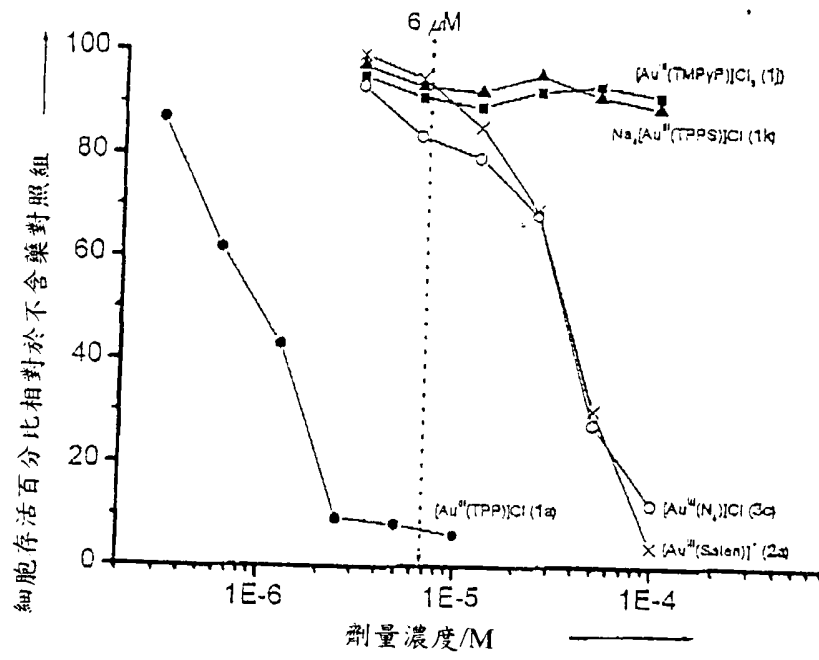


圖 15

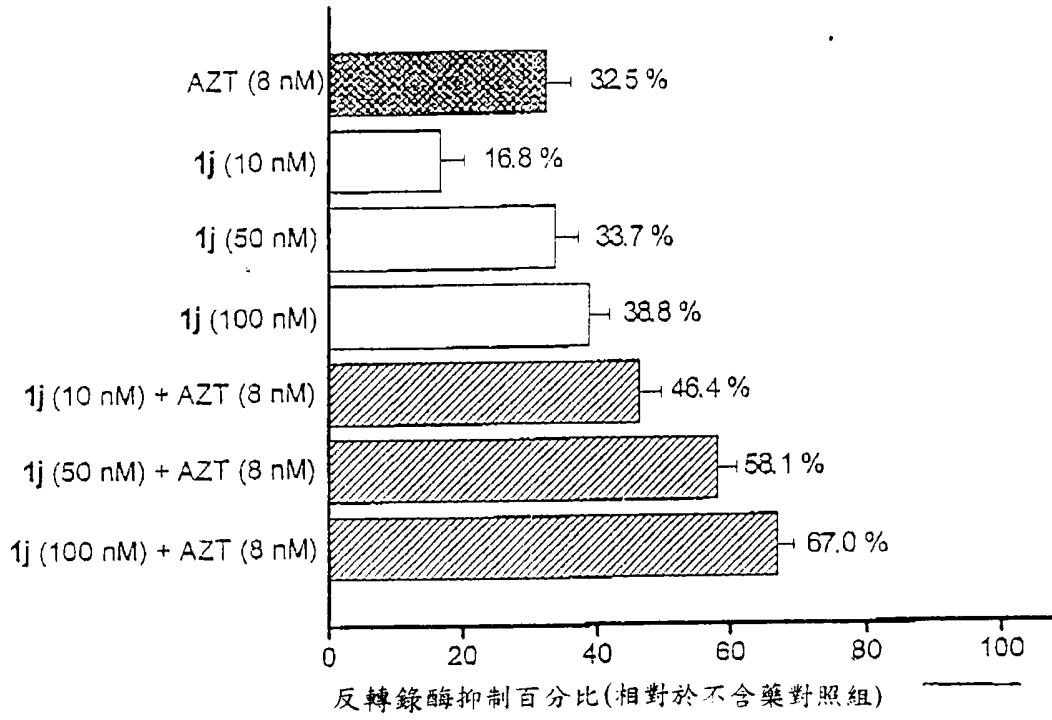


圖 16

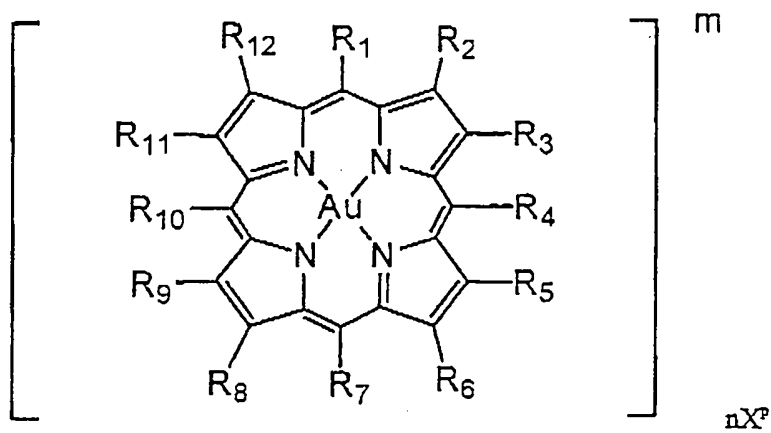
## 柒、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 ( 13 ) 圖。

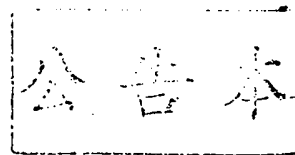
(二)本代表圖之元件代表符號簡單說明：

(無元件代表符號)

捌、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：



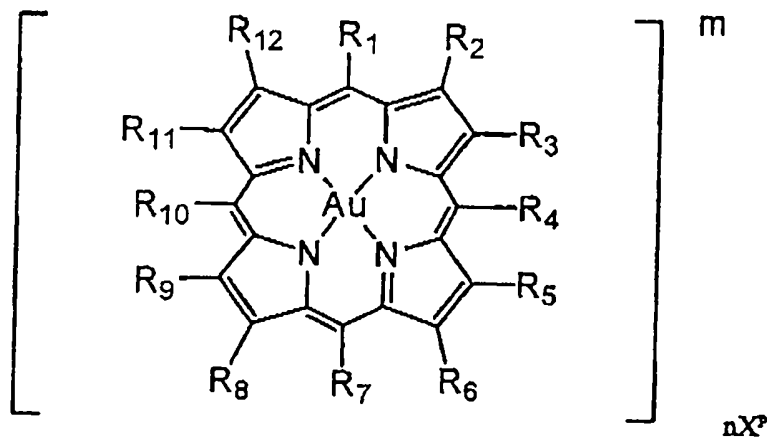
(I)



## 拾、申請專利範圍：

1. 一種誘導癌細胞凋亡之醫藥組合物，包含有效量之下式

金(III)錯合物：



或其醫藥上可接受之鹽，其中：

(a)  $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各為-苯基、-4-甲基苯基、-4-甲氧基苯基、-4-溴苯基、-4-氯苯基、-3,4,5-三甲氧基苯基、-3,4,5-三氯苯基或五氯苯基；

$R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H；

$X^p$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為1；及 $n$ 為1；或

(b)  $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各為-4-磺酸根苯基；

$R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H；

$X^p$ 為 $Na^+$ ； $m$ 為+3；及 $n$ 為3；或

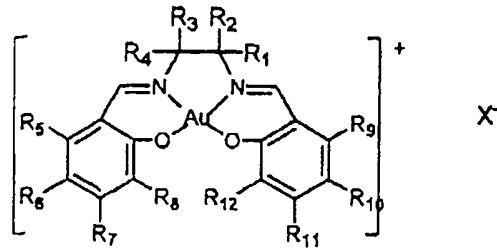
(c)  $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各為-H；

$R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-乙基，或 $R_2$ 及 $R_{11}$ 各自為-乙基， $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_9$ 及 $R_{12}$ 各自為-甲基，及 $R_6$ 及 $R_8$ 各自為-甲基-3-丙酸根；

$X^p$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為1；及 $n$ 為1。

2. 如申請專利範圍第1項之醫藥組合物，其中 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自為-H； $X^P$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為1；以及 $n$ 為1。
3. 如申請專利範圍第2項之醫藥組合物，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自為苯基。
4. 如申請專利範圍第2項之醫藥組合物，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自為-4-甲基苯基。
5. 如申請專利範圍第2項之醫藥組合物，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自為-4-溴苯基。
6. 如申請專利範圍第2項之醫藥組合物，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自為-4-氯苯基。
7. 如申請專利範圍第2項之醫藥組合物，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自為-五氟苯基。
8. 如申請專利範圍第1項之醫藥組合物，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自為-H； $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自為-乙基； $X^P$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為1；以及 $n$ 為1。
9. 如申請專利範圍第1項之醫藥組合物，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自為-H；以及 $R_2$ 及 $R_{11}$ 各自為-乙基； $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_9$ 及 $R_{12}$ 各自為-甲基； $R_6$ 及 $R_8$ 各自為-甲基-3-丙酸根； $X^P$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為1；以及 $n$ 為1。
10. 如申請專利範圍第1項之醫藥組合物，其中 $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各自分別為-4-磺酸根苯基； $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H； $X^P$ 為 $Na^+$ ； $m$ 為+3；以及 $n$ 為3。
11. 一種誘導癌細胞凋亡之醫藥組合物，包含有效量之下式

金(III)錯合物：



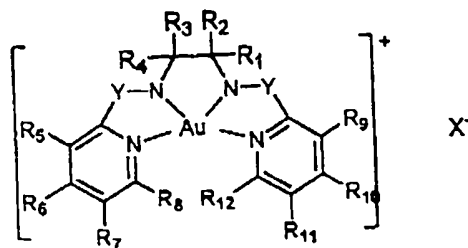
或其醫藥上可接受之鹽，其中：

$R_1$ - $R_{12}$ 各自分別為-H、-鹵原子、 $-(C_1-C_6)$ 烷基或 $-O(C_1-C_6)$ 烷基其可經以一或多個 $-O(C_1-C_6)$ 烷基或-鹵原子取代；

X為抗衡陰離子；以及

一種醫藥上可接受之載劑。

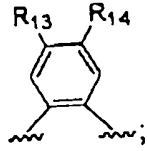
12. 如申請專利範圍第11項之醫藥組合物，其中 $R_1$ - $R_4$ 各自為-H；以及X為 $Cl^-$ 。
13. 如申請專利範圍第12項之醫藥組合物，其中 $R_5$ - $R_{12}$ 各自為-H。
14. 如申請專利範圍第12項之醫藥組合物，其中 $R_5$ 、 $R_7$ - $R_9$ 及 $R_{11}$ - $R_{12}$ 各自為-H；以及 $R_6$ 及 $R_{10}$ 各自為-Cl。
15. 如申請專利範圍第12項之醫藥組合物，其中 $R_5$ 、 $R_7$ 、 $R_9$ 及 $R_{10}$ 各自為-H；以及 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_{10}$ 及 $R_{12}$ 各自為-Cl。
16. 一種誘導癌細胞凋亡之醫藥組合物，包含有效量之下式金(III)錯合物：



或其醫藥上可接受之鹽，其中：

(a)  $R_1$ - $R_{12}$ 各自分別為-H、-鹵原子、 $-(C_1-C_6)$ 烷基或 $-O(C_6)$ 烷基其可經以一或多個 $-O(C_1-C_6)$ 烷基或-鹵原子取代；或

(b)  $R_1$ 及 $R_4$ 為不存在；以及 $R_2$ 及 $R_3$ 共同形成一個下式6-員芳基環



Y為  $x = \text{---}\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{---}$  或  $\text{---}\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{S}}\text{---}$  ；

$R_{13}$ 及 $R_{14}$ 各自分別為-H或-鹵原子；

X為抗衡陰離子；以及

一種醫藥上可接受之載劑。

17. 如申請專利範圍第16項之醫藥組合物，

其中Y為  $x = \text{---}\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{---}$  ；以及

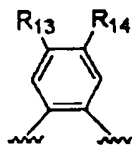
X為 $\text{Cl}^-$ 。

18. 如申請專利範圍第17項之醫藥組合物，其中 $R_1$ - $R_{12}$ 各自為-H。

19. 如申請專利範圍第17項之醫藥組合物，其中 $R_1$ - $R_4$ 各自為-甲基；以及 $R_5$ - $R_{12}$ 各自為-H。

20. 如申請專利範圍第17項之醫藥組合物，其中 $R_1$ 、 $R_4$ - $R_{12}$ 各自為-H；以及 $R_2$ 及 $R_3$ 各自為苯基。

21. 如申請專利範圍第17項之醫藥組合物，其中 $R_1$ 及 $R_4$ 為不存在； $R_2$ 及 $R_3$ 共同形成

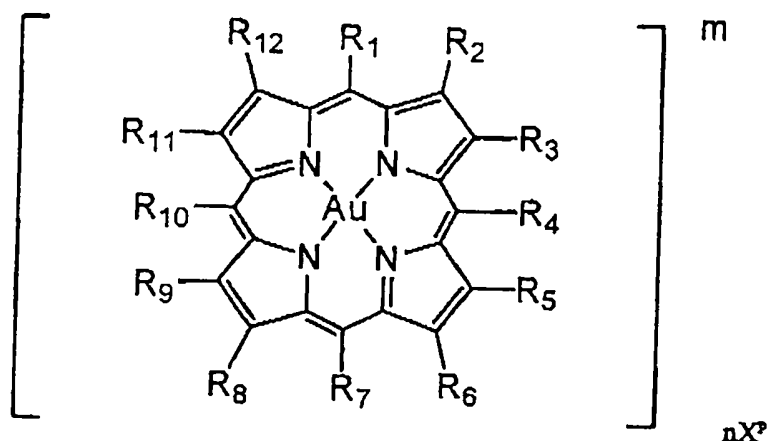


；以及

$R_5$ - $R_{12}$ 各自為-H。

22. 一種錯合物，其係由配位體及下式之金(III)錯合物形成：





或其醫藥上可接受之鹽，其中：

(a)  $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各為-4-甲基苯基、-4-甲氧基苯基、-4-溴苯基、-4-氯苯基、-3,4,5-三甲氧基苯基或-3,4,5-三氯苯基；

$R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H；

$X^p$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為1；及 $n$ 為1；或

(b)  $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各為-4-磺酸根苯基；

$R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R_9$ 、 $R_{11}$ 及 $R_{12}$ 各自分別為-H；

$X^p$ 為 $Na^+$ ； $m$ 為+3；及 $n$ 為3；或

(c)  $R_1$ 、 $R_4$ 、 $R_7$ 及 $R_{10}$ 各為-H；

$R_2$ 及 $R_{11}$ 各自為-乙基， $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_9$ 及 $R_{12}$ 各自為-甲基，及 $R_6$ 及 $R_8$ 各自為-甲基-3-丙酸根；

$X^p$ 為 $Cl^-$ ； $m$ 為1；及 $n$ 為1。