

안지오텐신 變換酵素 抑制 作用 物質의 合成

李姬珠 · 金榮淑 · 張 映 · 李鍾蘭* · 尹惠淑*

덕성여자대학교 약학과, *서울대학교 생약연구소

(Received November 5, 1984)

Synthesis of Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors

Heejoo Lee, Young Sook Kim, Young Chang

Jong Ran Lee and Hye Sook Yun-Choi

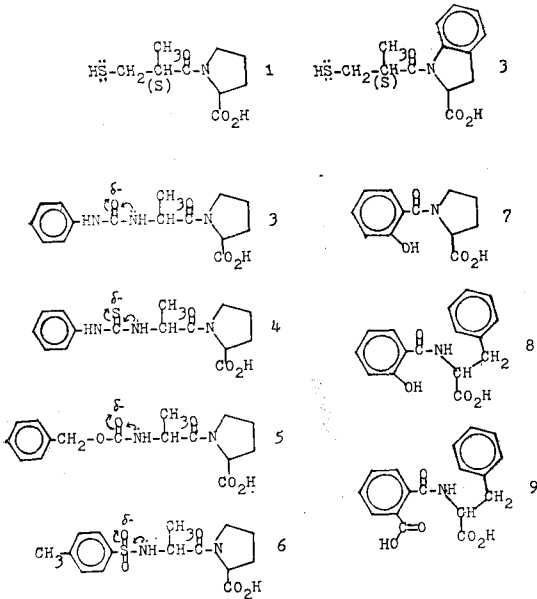
Department of Pharmacy, Duksung Woman's College, Seoul 182 and Natural
Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110, Korea

Abstract—Phenylurea, phenylthiourea, benzylcarbamate and toluenesulfonate of L-alanyl-L-proline(comp. 3~6) were synthesized and their effects against angiotensin-converting enzyme (ACE) were tested. Comp. 3 showed only mild inhibitory activities against ACE while comp. 4~6 were inert indicating that those functional groups were not suitable for interactions with ACE. Ortho-hydroxy- or ortho-carboxy-benzamide of proline (comp. 7) and phenylalanine (comp. 8 and 9) were also tested. Of the benzamides, ortho-hydroxy function was unsuitable to exert inhibitory activities against ACE. Ortho-carboxy group of 9 seemed to have mild interactions with active site of ACE possibly because of the shorter distance between the amide and ortho-carboxyl group of the compound than the corresponding two active sites of the enzyme.

안지오텐신 변환 효소(Angiotensin Converting Enzyme, ACE)는 peptide substrate로 부터 carboxy-terminal dipeptide를 끊어주는 exopeptidase이며, 생체내에서 혈압 조절에 매우 중요한 역할을 하는 효소이다. 즉 안지오텐신 I (angiotensin I)을 강력한 혈관 수축 작용을 갖는 안지오텐신 II (angiotensin II)로 변환시킴과 동시에 혈관 이완 작용을 갖는 브라디키닌(bradykinin)을 불활성화 시킴으로서 결과적으로 혈압을 상승시키는 역할을 한다.¹⁾

안지오텐신 변환 효소 억제제들은 안지오텐신 I의 안지오텐신 II로써 변환 및 브라디키닌의 불활성화를 억제함으로써 혈압 강하 작용을 가지며, 고혈압 치료제로서의 활용 가능성이 높다 하겠다.^{2,3)} Cushman 등은 안지오텐신 변환 효소가 carboxy-terminal의 dipeptide를, 그리고 carboxy peptidase가 한개의 아미노산을 떼어 주는 작용 유사점을 감안하여 이들 효소의 활성 부위와 유사하리라 생각되어 이에 결합하리라 예상되는 일련의 안지오텐신 변환 효소 억제제를 합성하였다.⁴⁻⁶⁾ 이중 강력한 억제작용을 보인 captopril (1)은 임상에 응용되고 있다. Captopril은 이제까지 혈압 강하제로 사용되어온 β -adrenoreceptor 차단제, 이노제, 혈관 확장제, 또는 중추 신경 작용 물질들과는 전혀 새로운 작용기전을 갖는 물질로서 각광을 받고 있다. 그러나 captopril은 단백뇨, agranulocytosis 등의 치명적인 부작용을 나타내며 이들 부작용은 구조중 thiol기에 기인하는 것으로 추정되어지고 있다.⁷⁾

최근 thiol기를 함유하지 않은 안지오텐신 변환 효소 억제 작용 물질의 합성에 많은 연구가 기울



여지고 있다.⁸⁻¹¹⁾ 본 연구 또한 이의 일환으로 captopril과 최근 Kim 등에 의해 captopril보다 억제 작용이 강하다고 보고된¹²⁾ 1-(3-mercapto-2-methyl-1-oxopropyl)-indoline-2-carboxylic acid (2)의 기본구조를 중심으로 하여 부작용을 나타낸다고 추정되는 thiol 기를 thiol 기와 유사하게 효소 작용 부위에서 결합하고 부작용은 나타내지 않으리라 예상되는 다른 기능기로 치환한 일련의 화합물 3~9를 합성하여, 이들의 안지오텐신 변환 효소 활성에 미치는 영향을 검색 하였다.

實驗 方法

시약 및 기구—시약 및 합성에 사용된 화합물은 Aldrich Chem. Co. 또는 Sigma Chem. Co.로부터 구입 사용 하였으며 용매는 특급 또는 일급 시약을 사용하였다. Hippury-L-histidyl-L-leucine (HHL), rabbit lung acetone powder,

안지오텐신 I 및 안지오텐신 II는 Sigma Chem. Co.로 부터 구입 사용하였다.

초원심 분리기는 Sorvall OTD-65B, UV는 Gilford 2600, IR은 Perkin-Elmer 283, NMR은 Varian FT-80A를 사용하여 측정하였으며 원소 분석은 한국 화학연구소에 의뢰 분석하였다.

L-Alanyl-L-proline phenylurea (3)의 합성—L-Alanyl-L-proline (500mg, 2.67mmol)을 Et₃N (3ml) 및 CHCl₃ (30ml) 혼합 용액에 용해시킨 후 교반하면서 CHCl₃ (5ml)에 녹인 phenylisocyanate (500mg, 4.2mmol)를 소량씩 가하고 계속하여 5시간 교반 반응 시킨 후 용매를 감압 하에서 증류 제거 하였다. 잔사를 증류수 (30ml)에 녹이고 EtOAc로 세척하였으며 양용매에 녹지 않은 침전은 여과 제거 하였다. 수용액을 citric acid로 pH 2~3으로 조절하고 EtOAc로 2회 추출 건조한 후 감압 증류하여 용매를 제거하여 백색분말의 phenylurea 유도체인 화합물 3을 얻었다. mp 102~104°C (EtOAc-hexane), IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ 1730 (COOH), 1620 (br, CONH, NHCONH); NMR (CDCl₃) δ 1.33(d, J=7Hz, 3H, CH₃), 1.75~2.4 (m, 4H, CH₂CH₂), 3.35~4.85 (m, 4H), 6.75~7.5 (m, 5H, phenyl), Anal. Calcd. for C₁₅H₁₉N₃O₄·1/4 EtOAc·1/4 H₂O : C, 57.89; H, 6.54; N, 12.66, Found; C, 57.78; H, 6.58; N, 12.42.

L-Alanyl-L-proline phenylthiourea (4)의 합성—L-Alanyl-L-proline (500mg, 2.69mmole)을 phenylurea (3)의 합성시와 같은 조건에서 phenylisothiocyanate (500mg, 3.7mmol)와 반응시키고 용매를 감압 증류 제거 하였다. 잔사를 증류수(30ml)에 녹이고 ether로 세척 하였다. 수용액을 citric acid로 pH 2~3으로 조절하고 ether로 2회 추출하여 ether층을 NaCl-포화 수용액으로 세척 건조한 후 감압 증류하여 용매를 제거 하였다. 잔여분을 EtOAc에 녹이고 hexane을 가하여 방치할 때 생성되는 침전을 여과 건조하여 phenylthiourea (4)를 얻었다 : mp 162~164°C, IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ 1720 (COOH), 1640 (CONH), 1540 (CS); NMR (DMSO-d₆) δ 1.4(d, J=7Hz, 3H, CH₃), 3.35~3.9(M, 2H, NCH₂), 4.2~4.5 (m, 1H, NCH), 5.23 (q, J=7Hz, 1H, CHCH₃),

1.6~2.3 (m, 4H, CH₂CH₂), 7.7 (m, 5H, phenyl), 9.83 (s, 1H, COOH), Anal. Calcd. for C₁₅H₁₉N₃O₃S·H₂O : C, 53.07; H, 6.25; N, 12.38. Found; C, 52.92; H, 6.79; N, 12.11.

Phenylthiourea (4)를 분리한 잔여액에서 cyclized된 화합물 5-methyl-3-phenyl-2-thiohydantoin을 결정으로 분리하였다: mp 182°C, IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ 1770 (CO), 1530 (CS); NMR (CDCl₃) δ 1.54 (d, J=7Hz, 3H, CH₃), 4.25 (q, J=7Hz, 1H, CH) 7.1~7.6 (m, 5H, phenyl), 8.0 (br, 1H, NH).

L-Alanyl-L-proline benzylcarbamate (5)의 합성—L-Alanyl-L-proline (400mg, 2.2mmole)과 Na₂CO₃ (400mg)를 증류수 (20ml)에 용해시키고 acetone (10ml)을 가하고 ice-bath에서 냉각시키면서 benzylchloroformate (500mg)을 acetone (5ml)에 희석하여 서서히 가하면서 반응시켰다. 2시간 교반 후 반응액을 ether로 세척하고 수층을 citric acid로 pH 2~3으로 한후 EtOAc로 2회 추출하였다. EtOAc층을 NaCl-포화 수용액으로 세척, 건조 시킨 후 감압 증류하여 용매를 제거 하였다. 잔여분을 진공 건조하여 무정형의 benzylcarbamate (5)를 얻었다: IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ 1720 (OCO), 1650 (CON); NMR (CDCl₃) δ 1.36 (d, J=7Hz, 3H, CH₃), 1.85~2.3 (m, 4H, CH₂CH₂), 3.35~3.8 (m, 2H, CH₂), 4.3~4.75 (m, 2H, CHCH₃, NCH), 5.05 (s, 2H, CH₂), 7.2~7.3 (m, 5H, phenyl). Anal. Calcd. for C₁₆H₂₀N₂O₅·H₂O : C, 56.78; H, 6.57; N, 8.28. Found : C, 56.84; H, 6.81; N, 8.24.

L-Alanyl-L-proline toluenesulfonate (6)의 합성—L-Alanyl-L-proline (186mg, 1mmole)과 Na₂CO₃ (250mg, 2.4mmol)을 증류수 (10ml)에 용해시키고 acetone (5ml)을 가한 후 toluenesulfonylchloride (300mg, 1.6mmol)을 acetone (5ml)에 녹여 서서히 가해주고 하루밤 동안 상온에서 방치 하였다. 반응액을 EtOAc로 세척하고 수층을 d-HCl로 pH 2~3으로 한 후 10% acetone-EtOAc로 3회 추출하였다. Acetone-EtOAc 층을 NaCl-포화 수용액으로 세척, 건조한 후 감압 증류하여 용매를 제거 하였다. 잔여분을 EtOAc-hexane으로 재결정하여 toluenesulfonate (6)를 얻었다: mp 172~178°C; IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ 1710 (COOH), 1620 (CONH); NMR (DMSO-d₆) δ 1.2 (d, J=7Hz, 3H, CH₃), 1.7~2.1 (m, 4H, CH₂CH₂), 2.40 (s, 3H, ϕ -CH₃), 3.2~3.6 (m, 2H, NCH₂), 3.8~4.2 (m, 2H, CHCH₃, NCH), 6.6 (d, J=8Hz, 1H, NH), 7.2 (d, J=7Hz, 2H, aryl), 7.65 (d, J=7Hz, 2H, aryl). Anal. Calcd. for C₁₅H₂₀N₂O₅S : C, 52.92; H, 5.93; N, 8.23. Found : C, 52.88; H, 6.32; N, 8.23.

N-Salicyl-L-proline (7)의 합성 (방법 a)—Acetylsalicylic acid (540mg, 3mmole) 및 N-hydroxysuccinic acid (380mg, 3.3mmole)를 CHCl₃ (20ml)에 용해시킨후 ice-bath에서 냉각 교반시키면서 N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (DCC, 680mg, 3.3mmole)을 가하고 L-proline-t-butylester (500mg, 3mmole)을 가하였다. Ice-bath에서 3시간 교반시킨 후 상온에서 하루밤 방치하고 감압 증류하여 용매를 제거한 후 잔액을 EtOAc에 녹이고 침전(N,N'-dicyclohexylurea, DCU)은 여과 제거 하였다. 잔사를 1N NaOH 수용액-EtOH (1:1)로 1시간 가수분해 시키고 EtOH를 증류 제거한 후 d-HCl로 pH 4로 조절하고 EtOAc로 추출하였다. 감압 증류하여 용매를 제거하고 silica gel column에 걸어 EtOAc-hexane (1:3)으로 elution하여 oil상의 N-salicyl-L-proline-t-butylester을 얻었다: NMR (CDCl₃) δ 1.45 (s, 9H, t-butyl), 1.75~2.4 (m, 4H, CH₂CH₂), 3.75 (t, 2H, NCH₂), 4.5 (t, 1H, NCH), 6.6~7.5 (m, 4H, phenyl). t-Butylester을 CF₃COOH (2ml)에 녹이고 상온에서 1시간 반응 시킨 후 감압 증류하여 CF₃COOH를 제거 하였다.

잔액을 silica gel column을 이용하여 20% MeOH-1% AcOH-CHCl₃로 elution하여 N-Salicyl-

L-proline (7)을 분리 정제하였다: mp 80°C; IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ 1700 (CO), 1600 (CONH); NMR (CDCl₃) δ 1.75~2.5 (m, 4H, CH₂CH₂), 3.83 (t, J=6Hz, 2H, NCH₂), 4.72 (t, J=6Hz, 1H, NCH), 6.7~7.55 (m, 4H, phenyl). Anal. Calcd. for C₁₂H₁₃NO₄: C, 61.26; H, 5.58; N, 5.96. Found: C, 60.92; H, 5.53; N, 5.66.

Aspirin의 N-hydroxysuccinimide (NHS) ester의 합성—Aspirin (5.4g, 0.03mole) 및 NHS (3.45g, 0.03mole)을 CHCl₃ (50ml)에 녹이고 냉장 시킨후 DCC (6.18g, 0.03mole)을 서서히 첨가 하였다. 하루밤 방치한 후 용매를 제거하고 EtOAc에 녹이고 침전(DCU)은 여과, 제거 하였다. 감압 증류하여 농축시켜 방치할 때 생성되는 aspirin의 NHS ester (IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ 1780, 1760, 1740, 1200)을 다음 반응에 사용하였다.

N-Salicyl-L-proline (7)의 합성 (방법 b)—L-Proline (1.15g, 0.01mole)과 NaHCO₃ (1.5g, 0.018mol)을 EtOH-증류수 (각 25ml)에 녹이고 교반하며 aspirin-NHS ester (2.8g, 0.011 mole)의 EtOH (5ml) 용액을 서서히 가해주었다. 반응액은 최초 뿌옇게 보였으나 1시간 후 맑게 되었다. 상온에서 하루밤 방치한 후 EtOH를 증류 제거하였다. 수용액을 d-HCl로 중화하고 15% MeOH-CHCl₃로 추출하여 용매를 제거 하였다. 잔여분을 silica gel column을 이용하여 20% MeOH-1% AcOH-CHCl₃로 elution하여 N-salicyl-L-proline (7)을 분리 하였으며 (a)방법에 의해 얻은 화합물 7과 TLC 등을 비교하여 동일 물질임을 확인하였다.

N-Salicyl-L-phenylalanine (8)의 합성—L-Phenylalanine (1.7g, 0.01mole)과 NaHCO₃ (2g, 0.028mol)을 EtOH-수용액 (20ml~30ml)에 녹이고 교반하면서 aspirin-NHS ester을 EtOH-dioxane (각 10ml)에 녹인것을 서서히 가해주었다. 상온에서 하루밤 방치한 후 유기용매를 제거하고 수용액을 ether로 세척 하였다. 수용액을 d-HCl로 pH 2로 조절한 후 ether로 추출하였다. 추출액으로부터 용매를 제거한 후 잔사를 silica gel column에 걸고 10% MeOH-CHCl₃로 elution하여 얻은 물질은 ether로 처리하여 백색분말의 N-salicyl-L-phenylalanine (8)을 얻었다. mp 112~114°C; IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ 3300, 3000 (br), 1710, 1640 (CONH); NMR (CDCl₃) δ 3.27 (d, J=6Hz, 2H, CH₂), 5.40 (t, J=6Hz, 1H, CH), 6.65~7.5 (m, 9H, aryl). Anal. Calcd. for C₁₆H₁₅NO₄·3/4 H₂O: C, 64.30; H, 5.58; N, 4.69. Found: C, 64.13; H, 5.07; N, 4.71.

N-(O-Phthalyl)-L-phenylalanine (9)의 합성—O-Phthalic acid (332mg, 2mmole)을 THF (50ml)에 녹이고 DCC에 녹이고 (412mg, 2mmole)을 서서히 가해준 후 상온에서 5시간 교반하고 60°C에서 1시간 더 반응시켰다. DCU를 여과 제거하고 phthalic anhydride를 함유하는 여액은 (TLC로 확인) 다음 반응에 직접 이용하였다. L-Phenylalanine (330mg, 2mmole)과 Na₂CO₃ (212mg, 2mmole)을 증류수 (30ml)에 녹이고 여기에 THF (20ml)를 가한 후 위에서 얻은 phthalic anhydride의 THF 용액을 서서히 가하고 하루밤 방치하였다. 유기용매를 제거한 후 수용액을 EtOAc로 세척하고 pH 2로 조절한 후 EtOAc로 생성물을 추출하였다. 용매 제거후 잔사를 ether-hexane으로 처리하여 백색 분말을 얻었다. mp 132~134°C; IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ 3280, 1700 (COOH), 1640 (CONH); NMR (DMSO-d₆) δ 3.08 (dd, J=3Hz, 7Hz, 2H, CH₂), 4.6~4.8 (t, J=7Hz, 1H, CH), 7.0~7.8 (m, 9H, aryl). Anal. Calcd. for C₁₇H₁₅NO₅: C, 65.16; H, 4.84; N, 4.47. Found: C, 64.70; H, 4.71; N, 4.61.

안지오텐신 변환 효소 작용 검색—Cuchman과 Cheung의 방법¹³⁾을 약간 수정하여 효소 작용을 검색하였다. Rabbit lung acetone powder 1g을 50mM potassium phosphate 완충액 (pH 8.3) 10ml와 homogenize한후 10°C에서 40,000g로 40분간 원심 분리하여 얻은 상층액을 냉장 보관하고 사

용시 등량의 600mM NaCl 함유 150mM potassium phosphate 완충액 (pH 8.3)으로 희석하여 조효소로 사용하였다. 효소의 unit(μ)는 Cushman과 Cheung의 방법에 의하여 결정하였다.¹³⁾ 효소 반응은 100mM potassium phosphate 완충액 pH 8.3에서 행하였으며 최종 0.25ml의 반응액은 300mM NaCl, 4.83mM HHL 및 6~9 μ 의 조효소를 함유하였다. 반응은 37°C에서 30분간 Dubnoff metabolic shaking incubator를 사용하여 행하였으며 1N HCl (0.25ml)을 가하여 반응을 중지시키고 3ml EtOAc를 가하고 세게 흔든 후 8,500g에서 10분간 원심 분리하였다. EtOAc층 2ml로 부터 용매를 증류시키고 남은 잔사를 1ml의 증류수에 녹여 생성되어 추출된 hippuric acid의 농도를 228nm에서 측정하였다. 합성된 시료를 넣었을 때와 control에서의 생성 추출된 hippuric acid의 양의 차이로 부터 효소 억제도를 계산하였다.

적출 장관 실험—합성된 시료 화합물들의 안지오텐신 I 및 안지오텐신 II에 의한 흰쥐 회장의 수축에 미치는 영향을 측정함으로써 안지오텐신 변환 효소에 미치는 영향을 검색하였다. Sprague-Dawley계 웅성흰쥐 (180~250g)로 부터 회장을 적출하여 3~4cm 길이로 2~3개를 잘랐다. 이를 magnus tube에서 37°C modified Kreb's solution¹⁴⁾에 suspend시키고 Kymograph에 연결하여 1g의 tension을 주어 고정시켰다. 95% O₂—5% CO₂ 혼합가스로 bubbling 시키면서 약 60분간 안정 시킨후 안지오텐신 I (최종농도 20ng/ml)을 투여하고 수축도를 관찰한 후 여러번 세척 후 충분히 (약 20분) 휴식 시킨후 실험 시료를 투여하고 1분후에 안지오텐신 I을 가하여 실험시료가 장관의 수축도에 미치는 영향을 관찰하였다. 안지오텐신 II (최종농도 20ng/ml)에 대하여도 같은 방법으로 실험하였다.

實驗 結果 및 考察

Urea 또는 thiourea 기능기를 가진 화합물(3과 4)은 L-alanyl-L-proline에 phenylisocyanate 또는 phenylisothiocyanate를 작용시켜 얻었으나 화합물 4는 쉽게 분해하여 cyclic compound인 5-methyl-3-phenyl-2-thiohydantion을 형성하였다.¹⁵⁾ 유사하게 L-alanyl-L-proline에 benzyl chloroformate를 작용시켜 carbamate 기능기를 가진 화합물 5 및 toluenesulfonyl chloride를 반응시켜 sulfonamide 유도체인 화합물 6을 비교적 용이하게 합성하였다. Phenol성 hydroxy기를 함유하는 화합물 7과 8은 먼저 DCC를 사용하여 aspirin의 carbonyl기를 N-hydroxysuccinimide의 ester로 활성화 시키고 여기에 L-proline-t-butylester를 축합시킨 후 acetyl 및 t-butyl기를 가수 분해 제거하여 salicyl-L-proline을 얻은 방법 또는 aspirin-NHS ester을 L-phenylalanine에 직접 반응시키는 방법을 이용하여 합성하였다. 이들 화합물들은 흡습성이 커서 결정화 시키기 어려웠고 감압하에서 건조하여 분말 상태로 얻었다. Carboxyl기를 기능기로 가진 화합물 9는 phthalic acid를 DCC로 탈수하여 anhydride를 만든 후 이를 L-phenylalanine과 직접 반응시켜 얻을 수 있었으나 L-proline을 phthalic anhydride와 반응시켰을 때 축합된 화합물은 분리해 낼 수 없었다. 얻은 화합물들의 수율은 30~50% 정도이었다.

합성된 유도체들의 안지오텐신 변환 효소에 대한 억제 작용은 lung acetone powder로 부터 조제한 조효소가 hippuryl-L-histidyl-L-leucine을 가수 분해 시켜 생성되는 hippuric acid의 양을 228m μ 에서의 흡광도로서 측정하는 직접적인 방법과¹³⁾ 적출 장관을 이용한 간접법을 병행하여 검색하였다. 전자의 경우 228nm에서 흡광이 있는 시료의 경우 고농도에서의 검색은 불가능한 단점이 있다. 후자의 방법은 적출 회장이 안지오텐신 II 뿐만 아니라 안지오텐신 I에 의해서도 수축 작용을 나타내며 이는 안지오텐신 I이 장관에 존재하는 안지오텐신 변환 효소에 의하여 안지

Table I—Inhibitory activities against ACE.

Compound	Enzyme assay (% inhibition at $5 \times 10^{-4}M$)	Effects on AI induced contraction (% inhibition at $1 \times 10^{-3}M$)
3	$4.3 \times 10^{-4*}$	$1.3 \times 10^{-3*}$
4	10 ± 4	38 ± 2
5	10 ± 6	0
6	12 ± 3	0
7	15 ± 4	0
8	28 ± 3	15 ± 5
9	$5.2 \times 10^{-4*}$	$4.2 \times 10^{-4*}$

*I₅₀ (Molar concentration at which 50% inhibition was observed)

상하였으나 실제 4~6은 억제 작용을 거의 갖지 않으며 화합물 3만이 억제작용을 갖는 점으로 보아 이들 기능기들은 효소 활성 부위에 결합하기에는 적합하지 않은 것으로 사료된다. 또한 3의 억제 작용이 적출 장관을 이용한 방법에서 좀 더 낮은 점으로 보아 장관에서의 흡수율 또한 낮은 것으로 사료된다.

다음으로 captopril (1)의 thiol기와 대치하여 효소 활성 부위에서 결합 가능한 기능기로서 phenol성 hydroxyl기와 carboxyl기를 고려하여 화합물 7, 9를 합성하였다. Phenol성 hydroxyl기는 pKa 9~11로서 thiol의 pKa 12와 유사하여 체내에서 thiol과 같은 정도 ion화되어 thiol과 유사하게 Cushman 등이 제창한 효소활성 부위의 Zn²⁺과 결합하리라 예상되었다. Carboxyl기 또한 체내에서 ion화 되어 효소 활성 부위의 Zn²⁺과 결합하여 효소 억제 작용을 갖으리라 기대 되었다. 최근 captopril (1)의 proline function에 보다 lipophilic한 기능을 도입시킨 화합물 2가 강력한 억제 작용을 나타냄이 발표되었으며 화합물 8 및 9는 2와 lipophilicity가 유사하나 보다 free한 구조를 갖는 phenylalanine 유도체로서 이들은 proline 유도체보다 합성 및 분리가 또한 용이하였다. 실험결과 이들 세개의 화합물중 9 즉 carboxyl기를 갖인 유도체만이 약한 효소억제 작용을 가짐을 알 수 있었다. 이는 화합물 8~9에서 amide group과 phenolic hydroxyl 또는 carboxyl기 사이에 2개의 탄소가 있는 점은 captopril에서 thiol기가 amide로 부터 2개의 탄소를 사이에 두고 있는 점과 동일하나 입체 구조를 감안할 때 captopril에서 보다 화합물 8~9에서의 두개의 기능기 사이의 거리가 짧기 때문에 ion화한 phenolic hydroxyl기 또는 carboxyl기가 효소활성 부위의 Zn²⁺과 견고하게 결합하지 못하는 것이 아닌가 고려된다.

이상의 결과를 기초로하여 효소 활성 부위에서의 기능기의 작용 및 기능기간의 거리, 입체 구조등을 고려하여 좀더 많은 유도체가 합성 연구되어야 하리라고 사료된다.

감사의 말씀 : 이 논문은 1982년도 한국과학재단 연구비 지원에 의해 이루어졌으며 이에 감사 드린다.

오텐신 II로 전환되어 수축을 나타냄을 이용한 방법으로서 안지오텐신 변환 효소 억제 작용이 있는 물질의 경우 안지오텐신 II에 의한 수축에는 영향을 미치지 않으나 안지오텐신 I에 의한 수축은 억제할 것이다.^{16,17)} 그러나 적출 장관을 사용함으로써 시료 물질의 장관에 의한 흡수도 등의 요인으로 영향을 받는 등의 장애 요인이 또한 있다.

합성된 화합물 3~9의 안지오텐신 억제 작용 검색 결과를 Table I에 종합 하였다.

일차적으로 합성된 화합물 3~6은 urea, thiourea, carbamate 또는 sulfonamide 기능기들의 resonance 구조가 captopril (1)의 thiol기와 유사하게 효소 활성 부위에 결합하리라 예

文 獻

1. R.L. Soffer, Angiotensin-converting enzyme and the regulation of vasoactive peptides. *Ann. Rev. Biochem.* **45**, 73 (1976).
2. M.A. Ondetti and D.W. Cushman, Enzymes of the renin-angiotensin system and their inhibitors. *Ann. Rev. Biochem.* **51**, 283 (1982).
3. D.W. Cushman and M.A. Ondetti, Inhibitors of angiotensin converting enzyme for treatment of hypertension. *Biochem. Pharmacol.* **29**, 1871 (1980).
4. D.W. Cushman, H.S. Cheung, E.F. Sabo and M.A. Ondetti., Design of potent competitive inhibitors of angiotensin-converting enzyme, carboxyalkanoyl and mercaptoalkanoyl amino acids. *Biochem.* **16**, 5484 (1977).
5. D.W. Cushman, H.S. Cheung, E.F. Sabo, B. Rubin and M.A. Ondetti, Development of specific inhibitors of angiotensin I converting enzyme (Kininase II). *Fed. Proced.* **38**, 2778 (1979).
6. M.E. Codon, E.W. Petrillo, D.E. Ryono, J.A. Reid, R. Neubeck, M. Puar, J.E. Heikes, E.F. Sabo, K.A. Losse, D.W. Cushman and M.A. Ondetti, Angiotensin-converting enzyme inhibitors; Importance of the amide carbonyl of mercaptoacyl amino acids for hydrogen bonding to the enzyme. *J. Med. Chem.* **25**, 250 (1982).
7. A.B. Atkinson and J.I.S. Robertson, Captopril: Benefits and risks in severe hypertension. *Lancet* **129** (1980).
8. A.A. Patchett, E. Harris, E.W. Tristram, M.J. Wyratt, M.T. Wu, D. Taub, E.R. Peterson, T.J. Ikeler, J. ten Broeke, L.G. Payne, D.L. Ondeyka, E.D. Thorsett, W.J. Greenlee, N.S. Lohr, R.D. Hoffsommer, H. Joshua, W.V. Ruyle, J.W. Rothrock, S.D. Aster, A.L. Maycock, F.M. Robinson, R. Hirschmann, C.S. Sweet, E.H. Ulm, D.M. Gross, T.C. Vassil and C.A. Stone, A new class of angiotensin-converting enzyme inhibitors, *Nature* **288**, 280 (1980).
9. R.G. Almquist, W.R. Chao, M.E. Ellis and H.L. Johnson, Synthesis and biological activity of a keto-methylene analogue of a tripeptide inhibitor of angiotensin converting enzyme. *J. Med. Chem.* **23**, 1392 (1980).
10. R.E. Galaray, Inhibition of angiotensin converting enzyme with N-phosphoryl-L-alanyl-L-proline and N-phosphoryl-L-valyl-L-tryptophan. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **97**, 94 (1980).
11. N. Gruenfeld, J.L. Stanton, A.M. Yuan, F.H. Ebetino, L.J. Browne, C. Gude and D.F. Huebner, Angiotensin converting enzyme inhibitors: 1-Glutarylindoline-2-carboxylic acid derivatives. *J. Med. Chem.* **26**, 1277 (1983).
12. D.H. Kim, C.J. Guinasso, G.C. Buzby, D.R. Herbst, R.J. McCaully, T.C. Wicks and R.L. Wendt, *J. Med. Chem.*, **26**, 394 (1983).
13. D.W. Cushman and H.S. Cheung, Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.* **20**, 1637 (1971).
14. R.E. Handschumacher and J.R. Vane, The relationship between the penetration of tryptamine and 5-hydroxytryptamine into smooth muscle and the associated contractions. *Brit. J. Pharmacol. Chemother.*, **29**, 105 (1967).
15. J.V. Marx, D.A. Richert and W.W. Westerfeld, Peripheral inhibition of thyroxine by thiohydantoin derivatives derived from amino acid. *J. Med. Chem.*, **13**, 1179 (1970).
16. D. Regoli and J.R. Vane, A sensitive method for the assay of angiotensin, *Brit. J. Pharmacol.*, **23**, 351 (1964).
17. B. Rubin, E.H. O'Keefe, D.G. Kotler, D.A. DeMaio and D.W. Cushman, Use of excised guinea pig ileum as a predictive test for inhibitors in vivo of angiotensin converting enzyme (ACE). *Fed. Process.*, **34**, 3115 (1975).