

## 항암제 안티네오플라스톤 A10의 동족체합성 및 항암 활성

최보길<sup>#</sup> · 서희경 · 김옥영 · 정병호 · 오인준 · 조원제 · 천승훈 · 박민수\* · 최상운\*\* · 이정욱\*\*

전남대학교 약학대학, \*경성대학교 약학대학, \*\*한국화학연구소

(Received December 13, 1996)

### Synthesis and Antitumor Activity of Antineoplaston A10 Analogues as Potential Antineoplastic Agents

Bo-Gil Choi<sup>#</sup>, Hee-Kyoung Seo, Ok-Young Kim,

Bung-Ho Chung, In-Jun Oh, Won-Jea Cho, Seung-Hoon Cheon,

Min-Soo Park\*\*, Sang-Un Choi\*\* and Chong-Ock Lee\*\*

College of Pharmacy, Chonnam National University, Kwangju, 500-757 Korea

\*College of Pharmacy, Kyungsoong University, Pusan 608-736, Korea

\*\*Korea Research Institute of Chemical Technology, Taedogdanji, Daejeon 305-606, Korea

**Abstract**—Some analogues and their Mannich bases of Antineoplaston A10 (A10) were synthesized. Chemical yield for the 2-(or 3-)thienyl, benzoyl, and phenylpropionyl analogues were high but 1-naphthyl analogue was synthesized in low yield. The Mannich bases formation of these analogues with morpholine went very well compared to other bases. 1-Naphthyl, 4-nitrobenzoyl, and phenylpropionyl analogues of A10 showed weak *in vitro* activity but the other A10 analogues showed weaker or no activity at 10-1000 µg/ml. But their Mannich bases containing A10 analogues showed good *in vitro* activity compared to simple A10 analogues.

**Keywords** □ Antineoplastic peptides, Antineoplaston A10 analog, 3-amino-2,6-piperidinedione, Mannich base, Antitumor agent

안티네오플라스톤 A10 (A10)은 인체의 뇨에서 분리된 저분자량의 펩티드유사체<sup>1)</sup>로서 3-(*N*-phenylacetyl)amino-2,6-piperidinedione의 구조를 가지고 있으며<sup>2)</sup> 항암<sup>3-5)</sup>, 항AIDS 작용<sup>6)</sup>뿐 아니라 파키슨질환<sup>7)</sup>, 신경정신질환<sup>8)</sup>에도 효과가 있음이 보고되었다.

부르진스키에 의하면<sup>9)</sup> A10은 생체에서 암과 같은 신생물에 대한 생화학적인 방어기작에 관여하고 있는 것으로 기대되고 있으며 유방암, 뇌암 등 다수의 고형암에 A10 단독으로 또는 다른 항암제의 병용투여시 항암활성이 우수해서 phase II 시험중에 있다. 그런데 A10은 특히 높은 용량에서도 독성이 거의 없는 장점을 가지고 있으나<sup>10-12)</sup>, 치료를 위해 많은 용량을 투여해야 하는 불편

이 있어 A10과 같이 거의 독성을 발현하지 않으면서 항암활성을 증대시키기 위해 A10을 선도물질로 하여 새로운 유도체개발 연구가 진행되고 있는데 Hendry 등은<sup>13)</sup> A10의 페닐기에 여러가지 치환기를 도입하여 다수의 화합물을 합성하고 이들 화합물중 *p*-aminophenyl기를 가진 것과 *p*-hydroxyphenyl기를 가진 것이 A10보다 활성이 우수함을 보고한 바있으며 저자 등은 A10의 Mannich base의 항암활성에 대해 보고한 바있다.<sup>14)</sup> 한편 piperidinedione계 약물인 탈리도마이드는<sup>15)</sup> 60년대 진정제로 개발된 약물로서 최기형성등으로 사용이 중지된 바있으나, 최근 항암 및 항AIDS약물로 개발가능성이 유력하게 제기되고 있으며<sup>16,17)</sup> 구조가 유사한 A10 동족체개발연구에 좋은 자료를 제공할 수 있다.<sup>18,19)</sup> 본 연구에서는 A10을 선도물질로하여 체계적인 구조변환을 통하여 동족체를 합성하고자 하였는데 우선 A10의

<sup>#</sup> 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

(전화) 062-520-7434 (팩스) 062-522-5654

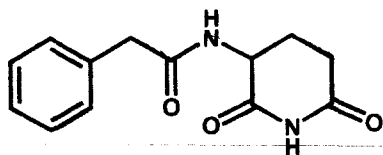


Fig. 1 — Chemical Structure of Antineoplaston A10.

페닐환대신 bioisostere인 티에닐환과 보다 부피가 큰 나프틸환을 도입함으로 방향족환 치환에 따른 페닐환의 효과와 페닐아세틸기대신 benzoyl 및 phenyl-propionyl 기를 도입함으로 페닐환과 아마이드성 질소사이의 거리에 따른 효과를 조사하고자 하였다. 나아가서는 그들의 Mannich 염기를 합성하여 A10유사체와 항암활성을 비교 검토하고자 하였다.

### 실험방법

본 합성실험의 시약은 Aldrich Chemical Co.제 제품을 사용하였으며 용점측정은 Electro-thermal IA 9000 용점측정기를 사용하여 보정없이 보고하였다. TLC는 precoated된 실리카겔 60F254 plate(Merck 제품)를 사용하고 칼럼크로마토그래피는 실리카겔 60(70~230 mesh, Merck제품)를 사용하였다. IR스펙트럼은 Perkin-Elmer 783형의 적외선 분광광도계로, UV스펙트럼은 Hewlett Packard 8452A UV/Vis분광광도계로 각각 측정하였다.  $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼은 Bruker 80sy FT-NMR을 사용하여 측정하였으며 내부표준물질로는 TMS를 사용하였고 chemical shift는  $\delta(\text{ppm})$ 단위로 나타내었다. Mass 스펙트럼은 Shimadzu GCMS QP2000A spectrometer를 사용하여 측정하였다.

**합성** - 합성과정은 Scheme I과 같으며 A10 동족체 합성과정은 상이하나 이로부터 Mannich 염기 합성은 같은 방법<sup>18)</sup>으로 제조하였다.

A 법: 2-, 3-thienylacetic acid를 우선 N-hydroxysuccinimide로 ester화하고  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 중에서 L-glutamine과 반응시켜 얻은 2-, 3-thienylacetyl-L-glutamine을 intramolecular cyclization시켜 목적물을 얻고 이것을 Mannich반응을 통해 Mannich 염기를 얻었다.

B 법: 상기 방법으로 일단 1-naphthylacetyl-L-glutamine을 만들어 다시 hydroxysuccinimide로

ester를 만들어 이를 DMF상에서 intramolecular cyclization시켜 목적물을 얻고 위에서와 같은 방법으로 Mannich염기를 제조하였다.

C 법: 문헌에 준하여<sup>20)</sup> 3-amino-2,6-piperidinedione을 합성하여 여기에 치환기가 있는 benzoyl chloride 및 phenylpropionyl chloride를 benzene중에서 반응시켜 목적하고자 하는 물질을 합성하고 상기와 같은 방법으로 Mannich염기를 제조하였다.

### 방향족환 치환 A10 동족체

#### 3-(2-Thienylacetyl)amino-2,6-piperidinedione (4a)

A법에 따라 합성하였다.

#### N-Hydroxysuccinimide ester of 2-thiopheneacetic acid (2a)

N-Hydroxysuccinimide (8.05 g, 70 mmol)을 무수acetonitrile (dried over 4A molecular sieve)에 녹인 용액을 역시 무수 acetonitrile 80 ml에 2-thiopheneacetic acid (9.95 g, 70 mmol)를 녹인 용액을 혼합하고 ice bath상에서 냉각시키고 여기에 1,3-dicyclohexylcarbodiimide (14.42 g, 70 mmol)의 무수acetonitrile용액을 질소분위기하에서 서서히 적가한 후 실온에서 24시간 반응시켰다. 무색 침전물을 여과한 후 여액을 농축하여 고상의 목적물을 정제함이 없이 다음 반응에 사용하였으며 분석용시료는 실리카겔칼럼을 사용하여 ethyl acetate/hexane(1:1)로 분리, 백색결정을 얻었다.

mp 138°C

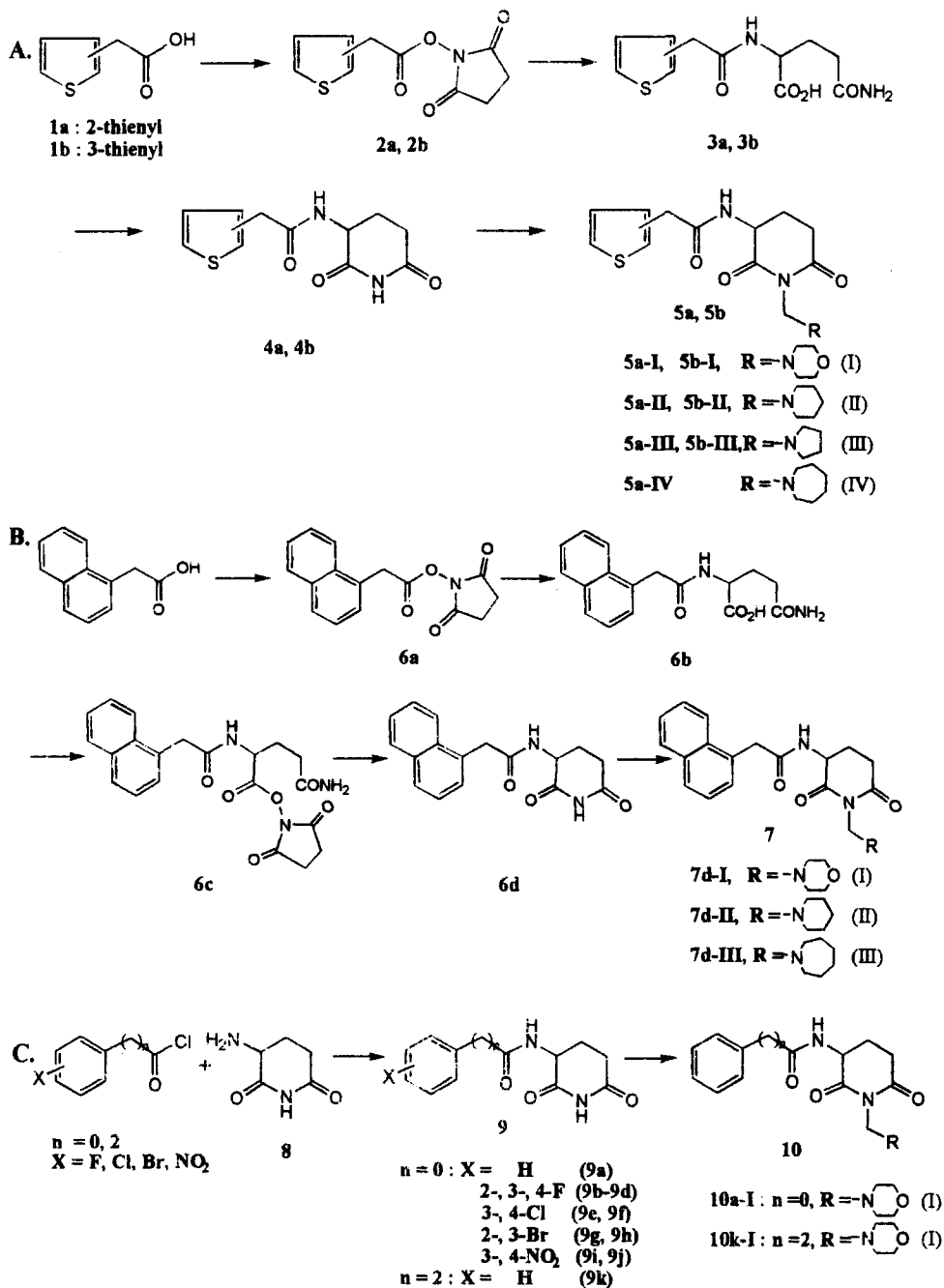
수득율 : 15.1 g (90.2%)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  : 2.81(s, 4H,  $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{-CO}$ ) 4.14(s, 2H,  $\text{CH}_2\text{COO}$ ), 6.96~7.29(m, 3H, thienyl-H)

MS : m/z 239( $\text{M}^+$ )

#### 2-Thiopheneacetyl-L-glutamine (3a)

2-Thiopheneacetic acid의 N-hydroxysuccinimide ester를 acetonitrile 100 ml에 용해시키고 L-glutamine (10.23 g, 70 mmol)를  $\text{H}_2\text{O}$  270 ml, acetonitrile 540 ml 및  $\text{NaHCO}_3$  11.76 g (140 mmol)의 혼합용매에 녹인 용액을 가하고 반응물을 실온에서 15시간 반응시켰다. 반응액을 약 1/2정도로 농축시키고 염산-water (1:1) 용액을 가해 pH 2-3으로 조정하



Scheme 1

여 감압건조하고 고형물을 다시 메탄올 150 ml에 녹이고 녹지않는 침전(NaCl)은 여과하여 제거한 후 농축하여 시럽상의 물질을 얻어 정제함없이 다음 반응에 그대로 사용하였다.

수득율 : 11.31 g (68.8% as crude product)

**3-(2-Thiopheneacetyl)amino-2,6-piperidinedione (4a)**

Crude한 생성물을 170°C에서 90분간 가열하여 반응 생성물을 TLC로 확인하면서 암갈색의 물질을 얻어서 냉각후 고상물질을 열메탄올에 녹여 활성탄으로 탈색하

고 여액을 농축하여 미황색의 고상물질을 얻었으며 이를 메탄올상에서 재결정하여 백색 고체를 얻었다.

mp 179~182°C

수득율 : 4.69 g (26.6%)

IR<sub>neat</sub> cm<sup>-1</sup> : 3280(amide NH), 3180(cyclic imide NH), 1670, 1730(C=O)

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ : 1.95(m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-CO), 2.50(m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 3.72(s, 2H, ArCH<sub>2</sub>-CON), 4.55(q, 1H, J=10Hz, NCHCO), 6.92~7.39(m, 3H, thienyl-H), 8.41(d, 1H, J=10Hz, CONH-ring), 10.76(s, 1H, CONHCO)

MS : m/z 252(M<sup>+</sup>)

### 3-(3-Thienylacetyl)amino-2,6-piperidinedione (4b)

A법에 따라 합성하였다.

### N-Hydroxysuccinimide ester of 3-thiopheneacetic acid (2b)

수득율 : 16.7 g (99% as crude product)

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ : 2.82(s, 4H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-CO), 3.97(s, 2H, CH<sub>2</sub>COO), 7.04~7.38(m, 3H, thienyl-H)

### 3-(3-Thiopheneacetyl)amino-2,6-piperidinedione (4b)

mp 182~183°C

수득율 : 5.08 g (28.8%)

IR<sub>neat</sub> cm<sup>-1</sup> : 3290(amide NH), 3190(cyclic imide NH), 1660, 1728(C=O)

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ : 1.95(m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 2.52(m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 3.75 (s, 2H, ArCH<sub>2</sub>CO), 4.55(q, 1H, J=10Hz, NCHCO), 6.00~7.50 (s, 3H, thienyl-H), 8.33(d, 1H, J=10Hz, CONH-ring), 10.76 (s, 1H, CONHCO)

MS : m/z 252(M<sup>+</sup>)

### 3-(1-Naphthylacetyl)amino-2,6-piperidinedione (6d)

B법에 따라 합성하였다.

### N-Hydroxysuccinimide ester of 1-naphthylacetic acid (6a)

2a 및 2b의 합성과정과 동일하게 반응시켜 백색 결정

을 얻었다.

수득율 : 17.1 g (as crude product)

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) : 2.66(s, 4H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 4.32(s, 2H, CH<sub>2</sub>COO), 7.38~7.88 (m, 7H, naphthyl-H)

### 1-Naphthylacetyl-L-glutamine (6b) 및 N-hydroxysuccinimide ester of 1-Naphthylacetyl-L-glutamine (6c)

3a 및 3b의 합성과정과 동일한 방법으로 N-Hydroxysuccinimide ester 17.1 g, L-glutamine (8.76 g, 60 mmol) 및 NaHCO<sub>3</sub> (10.08 g, 120 mmol)를 반응시켜 백색의 1-naphthylacetyl-L-glutamine (6b)을 얻고 이를 무수 DMF 300 ml를 가해 용해한 다음 N-hydroxysuccinimide (6.9 g, 60 mmol)를 녹인 무수 DMF용액 (90 ml)을 혼합하고 여기에 1,3-dicyclohexylcarbodiimide (12.36 g, 60 mmol)의 무수 DMF용액을 교반하면서 적가한 후 실온에서 40시간 반응시켰다. 무색침전물을 제거한 후 여액을 정제하지 않고 다음 반응에 사용하였다.

### 3-(1-Naphthylacetyl)amino-2,6-piperidinedione (6d)

상기 여액을 100°C에서 6시간 교반시키고 얻은 반응물을 0°C에 냉각하여 1일 방치하여 침상의 결정을 여과제거한 후, 여액을 농축하여 시럽상의 물질을 얻었다. 이를 실리카겔칼럼으로 분리하여 황색의 고상물질을 얻어 MeOH로 재결정하여 백색의 고체를 얻었다.

mp 221~224°C

수득율 : 2.91 g (16.4%)

IR<sup>neat</sup> cm<sup>-1</sup> : 3330(amide NH), 3190(cyclic imide NH), 1650, 1730(C=O)

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ : 1.94(m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-CO), 2.50(m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 3.98(s, 2H, ArCH<sub>2</sub>CON), 4.63(q, 1H, J=8.0Hz, NCHCO), 7.42~8.16 (m, 5H, naphthyl-H), 8.54(d, 1H, J=10Hz, CONH-ring), 10.76(s, 1H, CONHCO)

MS : m/z 252(M<sup>+</sup>)

### 페닐환과 아미드성 질소사이의 탄소수변화

3-(Substituted-benzoyl)aminopiperidine-2,6-dione (9a-j) - C법에 따라 합성하였다.

**3-(Benzoyl)aminopiperidine-2,6-dione (9a)**

3-amino-2,6-piperidinedione (0.15 g, 1.17 mmol)을 무수피리딘 2 ml에 녹여 질소기류하에서 benzoyl chloride (0.16 g, 1.14 mmol)을 가해 1시간 동안 실온에서 반응시키고 소량의 물을 가해 농축한 후 메탄올로 재결정하여 백색 판상결정을 얻었다.

mp 221~222°C

수득율 : 0.05 g (22.1%)

IR<sup>KBr</sup>(cm<sup>-1</sup>) : 3190(imide NH), 1730, 1640(C=O)

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ : 2.1(m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.7(m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 4.8(q, 1H, J=8.4Hz, NCHCO), 7.4(m, 4H, arom H), 8.8(d, 1H, CONHCH), 10.9(s, 1H, CONHCO)

**3-(2-Fluorobenzoyl)aminopiperidine-2,6-dione (9b)**

미황색 침상결정, mp 189~190°C

수득율 : 0.53 g (61.4%) IR<sup>KBr</sup>(cm<sup>-1</sup>) : 3220(imide NH), 1710, 1650(C=O)

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ : 2.03(m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.81(m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 4.8(q, 1H, J=8.5Hz, NCHCO), 7.4(m, 4H, arom H), 8.5(d, 1H, J=8.0Hz, CONHCH), 10.8(s, 1H, CONHCO)

**3-(3-Fluorobenzoyl)aminopiperidine-2,6-dione (9c)**

회백색결정, mp 228~229°C

수득율 : 0.11 g (28.9%)

IR<sup>KBr</sup>(cm<sup>-1</sup>) : 3200(imide NH), 1760, 1650(C=O)

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ : 1.92(m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.63(m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 4.8(q, 1H, J=8.5Hz, NCHCO), 7.6(m, 4H, arom H), 8.8(d, 1H, J=7.8Hz, CONHCH), 10.8(s, 1H, CONHCO)

**3-(4-Fluorobenzoyl)aminopiperidine-2,6-dione (9d)**

백색결정, mp 244~246°C

IR<sup>KBr</sup>(cm<sup>-1</sup>) : 3200(imide NH), 1730, 1640(C=O)

수득율 : 0.27 g (71.1%)

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ : 1.97(m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.59(m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 4.8(q, 1H, J=8.6Hz, NCHCO), 7.8(m, 4H, arom H), 8.75(d, 1H, J=8.2Hz, CONHCH), 10.8(s, 1H, CONHCO)

**3-(3-Chlorobenzoyl)aminopiperidine-2,6-dione (9e)**

백색결정, mp 220~223°C

수득율 : 0.17 g (56.7%)

IR<sup>KBr</sup>(cm<sup>-1</sup>) : 3200(imide NH), 1730, 1640(C=O)

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ : 1.94(m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.7(m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 4.8(q, 1H, J=8.6Hz, NCHCO), 7.64(m, 4H, arom H), 8.9(d, 1H, J=8.2Hz, CONHCH), 10.8(s, 1H, CONHCO)

**3-(4-Chlorobenzoyl)aminopiperidine-2,6-dione (9f)**

백색결정, mp 250~252°C

수득율 : 0.26 g (42.7%)

IR<sup>KBr</sup>(cm<sup>-1</sup>) : 3200(imide NH), 1730, 1640(C=O)

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ : 1.96(m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.65(m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 4.8(q, 1H, J=8.6Hz, NCHCO), 7.9(m, 4H, arom H), 8.8(d, 1H, J=8.2Hz, CONHCH), 10.8(s, 1H, CONHCO)

**3-(2-Bromobenzoyl)aminopiperidine-2,6-dione (9g)**

백색결정, mp 212~213°C

수득율 : 0.11 g (31.4%)

IR<sup>KBr</sup>(cm<sup>-1</sup>) : 3200(imide NH), 1730, 1650(C=O)

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ : 1.88(m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.68(m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 4.7(q, 1H, J=8.5Hz, NCHCO), 7.45(m, 4H, arom H), 8.7(d, 1H, J=8.3Hz, CONHCH), 10.8(s, 1H, CONHCO)

**3-(3-Bromobenzoyl)aminopiperidine-2,6-dione (9h)**

백색결정, mp 235~237°C

수득율 : 0.53 g (74.9%)

IR<sup>KBr</sup>(cm<sup>-1</sup>) : 3200(imide NH), 1730, 1650(C=O)

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ : 1.92(m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.72(m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 4.8(q, 1H, J=8.5Hz, NCHCO), 7.74(m, 4H, arom H), 8.9(d, 1H, J=8.3Hz, CONHCH), 10.8(s, 1H, CONHCO)

**3-(3-Nitrobenzoyl)aminopiperidine-2,6-dione (9i)**

회백색결정, mp 193~195°C

수득율 : 0.33 g (31.1%)

IR<sup>KBr</sup>(cm<sup>-1</sup>) : 3200(imide NH), 1720, 1650(C=O)

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ : 1.78(m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.48(m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 4.7(q, 1H, J=8.5Hz, NCHCO), 8.11(m, 4H, arom H), 9.1(d, 1H, J=

8.3Hz, CONHCH), 10.8(s, 1H, CONHCO)

### 3-(4-Nitrobenzoyl)aminopiperidine-2,6-dione (9j)

황색결정, mp 199~200°C

수득율 : 0.1 g (23.8%)

IR<sup>KBr</sup>(cm<sup>-1</sup>) : 3200(imide NH), 1700, 1660(C=O)

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ : 1.82(m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.57(m, 2H, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>) 4.8(q, 1H, J=8.6Hz, NCHCO), 7.34(m, 4H, arom H), 9.1(d, 1H, J=8.3Hz, CONHCH), 10.8(s, 1H, CONHCO)

### 3-(Phenylpropionyl)aminopiperidine-2,6-dione (9k)

mp 165.8°C

수득율 : 53.1%

<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>) : 1.81~2.10(m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-CO), 2.42~3.07(m, 6H, Ar-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO & CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-CO), 4.58(q, 1H, J=8.4Hz, NCHCO), 7.27(s, 5H, arom H), 8.27(d, 1H, J=8.1Hz, CONH-ring), 10.83(s, 1H, CONHCO)

### Mannich base합성

#### 3-(2-Thiopheneacetyl)amino-2,6-dioxo-1-morpholinomethylpiperidine (5a-I)

3-(2-Thiopheneacetyl)amino-2,6-piperidine-dione 0.50 g (2 mmol)과 Werner 등의 합성방법<sup>19)</sup>에 준하여 합성한 *N*-hydroxymethylmorpholine 0.47 g (4 mmol)을 EtOAc 20 ml에 가하여 20분간 환류하면서 반응시킨 후 증발건고한 후 benzene으로 재결정하였다.

mp 132~134°C

수득율 : 84.3%

IR<sup>KBr</sup>(cm<sup>-1</sup>) : 3280(amide NH) 1680, 1735(imide C=O) 1650(amide C=O)

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ : 1.92(m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 2.65(t, 4H, J=5Hz, CH<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>), 2.86(m, 2H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>CO), 3.64(t, 4H, J=5Hz, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>) 3.85(s, 2H, thienyl-CH<sub>2</sub>CO), 4.46(m, 1H, NCHCO) 4.68(d, 2H, J=3.6Hz, NCH<sub>2</sub>N), 6.28(brs, 1H, CONHCH), 6.97~7.35(m, 3H, thienyl-H) MS(m/z, M<sup>+</sup>) : 351

#### 3-(2-Thiopheneacetyl)amino-2,6-dioxo-1-piperidinomethylpiperidine (5a-II)

mp 123~124°C

수득율 : 84.0%

IR<sup>KBr</sup>(cm<sup>-1</sup>) : 3280(amide NH), 1680, 1740(imide C=O), 1650(amide C=O)

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ : 1.45~1.65(m, 6H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 1.65~2.00(m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 2.55(m, 4H, CH<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>), 2.85(m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 3.85(s, 2H, thienyl-CH<sub>2</sub>CO), 4.50(m, 1H, NCHCO), 4.75(d, 2H, J=3Hz, NCH<sub>2</sub>N), 6.60(b, 1H, CONHCH), 6.97~7.35(m, 3H, thienyl-H) MS(m/z, M<sup>+</sup>) : 349

#### 3-(2-Thiopheneacetyl)amino-2,6-dioxo-1-pyrrolidinomethylpiperidine (5a-III)

수득율 : 49.3%

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ : 1.76(m, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 1.98(m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 2.38~2.57(m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 2.66~2.90(m, 4H, CH<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>), 3.85(s, 2H, thienyl-CH<sub>2</sub>CO), 4.50(q, 1H, J=7Hz, NCHCO), 4.81(d, 2H, J=2.5Hz, NCH<sub>2</sub>N), 6.50(b, 1H, CONHCH), 6.97~7.30(m, 3H, thienyl-H) MS(m/z, M<sup>+</sup>) : 335

#### 3-(2-Thiopheneacetyl)amino-2,6-dioxo-1-homopiperidinomethylpiperidine (5a-IV)

mp 131~132°C

수득율 : 66.1%

IR<sup>KBr</sup>(cm<sup>-1</sup>) : 3280(amide NH), 1680, 1720(imide C=O), 1660(amide C=O)

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ : 1.43~1.79(m, 10H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 2.42~2.87(m, 6H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-CO, CH<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>), 3.84(s, 2H, thienyl-CH<sub>2</sub>CO), 4.50(m, 1H, NCHCO), 4.78(d, 2H, J=2.6Hz, NCH<sub>2</sub>N), 6.54(b, 1H, CONCH), 6.97~7.30(m, 3H, thienyl-H) MS(m/z, M<sup>+</sup>) : 363

#### 3-(3-Thiopheneacetyl)amino-2,6-dioxo-1-morpholinomethylpiperidine (5b-I)

mp 156~158°C

수득율 : 89.7%

IR<sup>KBr</sup>(cm<sup>-1</sup>) : 3260(amide NH), 1680, 1730(imide C=O), 1650(amide C=O)

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ : 1.74~2.21(m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-

CO), 2.66(t, 4H,  $J=5\text{Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{NCH}_2$ ), 2.87(m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.61-3.72(m, 6H,  $\text{CH}_2\text{OCH}_2$  and thienyl- $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 4.48(m, 1H,  $\text{NCHCO}$ ), 4.67(d, 2H,  $J=3.6\text{Hz}$ ,  $\text{NCH}_2\text{N}$ ), 6.40(bs, 1H,  $\text{CONHCH}$ ), 7.01~7.41(m, 3H, thienyl-H)

**3-(3-Thiopheneacetyl)amino-2,6-dioxo-1-piperidino-methylpiperidine (5b-II)**

mp 118~120°C

수득율 : 88.8%

$\text{IR}^{\text{KBr}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3320 (amide NH), 1680, 1730 (imide C=O), 1650 (amide C=O)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  : 1.43~1.98(m, 8H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$  and  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.47(m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{CO}$ ), 2.75(m, 4H,  $\text{CH}_2\text{NCH}_2$ ), 3.67(s, 2H, thienyl- $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 4.50(m, 1H,  $\text{NCHCO}$ ), 4.69(d, 2H,  $J=3.2\text{Hz}$ ,  $\text{NCH}_2\text{N}$ ), 6.40(b, 1H,  $\text{CONHCH}$ ), 7.00~7.41(m, 3H, thienyl-H)

**3-(3-Thiopheneacetyl)amino-2,6-dioxo-1-pyrrolidinomethylpiperidine (5b-III)**

수득율 : 49.3%

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 1.45~2.00(m, 8H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-CO}$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 2.38~2.57 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-CO}$ ), 2.85(m, 4H,  $\text{CH}_2\text{NCH}_2$ ), 3.85(s, 2H, thienyl- $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 4.50(m, 1H,  $\text{NCHCO}$ ), 5.11(d, 2H,  $J=3\text{Hz}$ ,  $\text{NCH}_2\text{N}$ ), 6.97~7.30(m, 3H, thienyl-H)

**3-(1-Naphthylacetyl)amino-2,6-dioxo-1-morpholino-methylpiperidine (7d-I)**

mp 172~174°C

수득율 : 74.6%

$\text{IR}^{\text{KBr}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3400 (amide NH), 1680, 1730 (imide C=O)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  : 1.5~2.4(m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-CO}$ ), 2.66~2.86(m, 6H,  $\text{CH}_2\text{NCH}_2$  and  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-CO}$ ), 3.79(m, 4H,  $\text{CH}_2\text{OCH}_2$ ), 4.08(s, 2H, naphthyl- $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 4.51(m, 1H,  $\text{NCHCO}$ ), 4.74(d, 2H,  $J=2.8\text{Hz}$ ,  $\text{NCH}_2\text{N}$ ), 6.50(b, 1H,  $\text{CONHCH}$ ), 7.45~8.01(m, 7H, naphthyl-H)

**3-(1-Naphthylacetyl)amino-2,6-dioxo-1-piperidin-**

**omethylpiperidine (7d-II)**

mp 146°C

수득율 : 71.3%

$\text{IR}^{\text{KBr}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3350 (amide NH), 1680, 1730 (imide C=O), 1650 (amide C=O)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  : 1.25~1.86(m, 8H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$  and  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.47(m, 4H,  $\text{CH}_2\text{-NCH}_2$ ), 2.61~2.82(m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 4.08(s, 2H, naphthyl- $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 4.36~4.60(m, 1H,  $\text{NCHCO}$ ), 4.61(d, 2H,  $J=2.8\text{Hz}$ ,  $\text{NCH}_2\text{N}$ ), 6.30(s, 1H,  $\text{CONHCH}$ ), 7.42~7.98(m, 7H, naphthyl-H)

**3-(1-Naphthylacetyl)amino-2,6-dioxo-1-homopiperidinomethylpiperidine (7d-III)**

mp 126°C

수득율 : 80.1%

$\text{IR}^{\text{KBr}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3300 (amide NH), 1680, 1730 (imide C=O), 1650 (amide C=O)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  : 1.43~2.00(m, 10H,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$  and  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.52~2.87(m, 6H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$  and  $\text{CH}_2\text{NCH}_2$ ), 4.10(s, 2H, naphthyl- $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 4.50(m, 1H,  $\text{NCHCO}$ ), 4.72(d, 2H,  $J=2.6\text{Hz}$ ,  $\text{NCH}_2\text{N}$ ), 6.2(b, 1H,  $\text{CONHCH}$ ), 7.43~7.98(m, 7H, naphthyl-H)

**3-(Benzoyl)amino-2,6-dioxo-1-piperidinomethylmorpholine (15a-I)**

mp 156~157°C

수득율 : 90.6%

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  : 1.87(m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-CO}$ ), 2.61(t, 4H,  $J=4.7\text{Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{NCH}_2$ ), 2.81(m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3.65(m, 4H,  $\text{CH}_2\text{OCH}_2$ ), 4.74(m, 1H,  $\text{NCHCO}$ ), 4.77(d, 2H,  $J=3.5\text{Hz}$ ,  $\text{NCH}_2\text{N}$ ), 7.1 (d, 1H,  $J=4.9\text{Hz}$ ,  $\text{CONHCH}$ ), 7.4~7.7(m, 5H, arom H)

$\text{IR}^{\text{KBr}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3290 (amide NH), 1680, 1640 (C=O)

**3-(Phenylpropionyl)amino-2,6-dioxo-1-piperidinomethylmorpholine (15k-I)**

mp 118~119°C

수득율 : 55.7%  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  : 1.67(m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.54(m, 6H,  $\text{CH}_2\text{NCH}_2$  & Ar-

CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.78(m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO), 3.0(t, 2H, J = 7.6Hz, Ar-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.63(t, 4H, J=4.7Hz, CH<sub>2</sub>-OCH<sub>2</sub>), 4.57(m, 1H, NCHCO), 4.71(d, 2H, J=3.5 Hz, NCH<sub>2</sub>N), 6.25(d, 1H, J=5.28Hz, CONHCH), 7.18-7.31(s, 5H, arom H)

IR<sup>KBr</sup>(cm<sup>-1</sup>): 3290(amide NH), 1680, 1650(C=O)

**In vitro 항암시험** - 화합물의 항암시험은 sulforhodamine B(SRB)법을 사용하였으며 암세포는 A549 (human lung), SK-OV-3 (human ovarian), HCT-15 (human colon), XF-498 (human CNS) 및 SK-MEL-2 (human melanoma) 5종을 사용하였고 암세포에 대한 약물의 억제효과를 측정하였다. 측정치로부터 각 화합물의 50% 억제농도값을 계산하여 세포독성정도를 비교하였다.

## 결 과

**합성** - 새로 합성한 화합물의 합성과정을 살펴보면 A10의 페닐환대신 2-, 3-티에닐환의 도입은 우선 thienylacetic acid를 hydroxysuccinimide ester로 하고 L-glutamine과 반응하여 2- 및 3-thienylacetyl-L-glutamine으로 만들고 intramolecular cyclization를 거쳐 목적물을 합성하였다. 또한 나프틸환의 도입은 티

에닐기와 같이 1-naphthylacetyl-L-glutamine을 합성하고 이를 다시 hydroxysuccinimide로 ester화하여 이를 DMF상에서 intramolecular cyclization시켰다. 한편 phenyl ring과 amide사이에 탄소가 하나 적은 3-(benzoyl)amino-2,6-piperidinedione을 포함한 수종의 유도체는 3-amino-2,6-piperidinedione을 합성하여 acid halide와 반응시켜 얻었다. 또한 Mannich base류의 경우 morpholine, piperidine, pyrrolidine 및 hexaethyleneimine을 사용하여 반응시켜서 얻었으며 이들 화합물은 IR 및 NMR spectrum으로 확인하였다.

**In vitro 항암시험** - 합성한 화합물의 항암활성시험결과는 Table I 및 II에 나타냈으며 대조물질로서 A10, 탈리도마이드 및 carboplatin을 사용하였다. 페닐환대신 bioisostere인 티에닐환으로 치환한 2- 및 3-thienyl 동족체는 A10과 같이 시험한 농도범위(10-1,000 µg/ml) 내에서 항암활성을 관찰할 수 없었으며, 1-나프틸환으로 치환한 경우에도 약간의 활성을 나타냈었다. 페닐환과 이미드성 질소사이의 탄소수가 하나 적은 구조의 benzoyl 동족체 및 그 치환체도 역시 항암활성에 있어 차이가 나타나지 않았으나 탄소수가 하나 많은 phenylpropionyl 동족체는 약간의 활성증가가 관찰되었다. 또한 이들 동족체류의 Mannich 염기의 경우 각각의 동족체보다 항암 활성의 큰 증가를 보였는데 티에닐 동족체

**Table I** - *In vitro* Antitumor Activity of A10 Analogues

Ar	n	ED <sub>50</sub> (µg/ml)				
		A459	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
2-Thienyl	1	>100	>1000	>1000	>1000	>1000
3-Thienyl	1	864.0	>1000	760.2	>1000	>1000
1-Naphthyl	1	353.0	435.0	199.4	218.6	220.7
Phenyl	0	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
2-F-phenyl	0	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
2-Cl-phenyl	0	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
4-Cl-phenyl	0	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
4-NO <sub>2</sub> -phenyl	0	148.5	395.2	91.4	82.3	114.7
Phenyl	2	165.0	>1000	388.5	222.6	424.9
A10		>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
Thalidomide		294.3	>1000	>1000	104.2	249.4
Carboplatin		34.6	11.6	12.6	33.8	37.3

\* Methods: SRB(sulforhodamine B) assay

\*\* Tumor cell lines: A549(human lung), SK-OV-3 (human ovarian), SK-MEL-2(human melanoma), XF498(human CNS) HCT15(human colon)



**Table II** — *In vitro* Antitumor Activity of Mannich Bases of A10 Analogues

Ar	n	R	ED <sub>50</sub> (μg/ml)				
			A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	HCT15	XF498
2-Thienyl	1	mor.	26.0	38.2	23.1	45.0	25.5
2-Thienyl	1	pipe.	23.5	25.4	25.5	30.6	22.5
2-Thienyl	1	pyrr.	25.0	25.7	24.6	36.8	23.8
3-Thienyl	1	mor.	23.4	26.3	24.7	533.3	22.7
3-Thienyl	1	hexa.	25.0	27.6	25.7	24.7	18.3
1-Naphthyl	1	mor.	35.4	31.8	15.4	45.2	19.1
1-Naphthyl	1	pipe.	31.9	35.3	30.9	56.1	23.2
1-Naphthyl	1	hexa.	65.4	117.3	35.4	102.0	38.0
Phenyl	0	mor.	30.2	29.6	18.3	9.3	17.6
Phenyl	2	mor.	34.1	32.3	18.0	9.3	3.2
A10			>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
Thalidomide			294.3	>1000	>1000	104.2	249.4
Carboplatin			34.6	11.6	12.6	33.8	37.3

보다 1-나프칠 동족체의 경우가 오히려 활성이 낮았다. 탄소수가 하나 차이가 있는 benzoyl 및 phenyl-propionyl 동족체의 morpholine화합물 모두 항암활성을 나타냈다.

**고 찰**

**합성** - A10 Analog합성에는 A, B 및 C법에 따라 달리 합성하였는데 이는 목적물질의 합성과정에서 piperidinedione ring을 형성시키는 데 화합물의 종류에 따라 수율의 상당한 차이가 있기에 합성방법을 달리하였다. 2-, 3-thienyl 동족체 합성의 경우 ester화한 후 펩티드를 형성시켜 intramolecular cyclization으로 비교적 높은 수율로 목적물을 합성할 수 있었으나 naphthyl 동족체의 합성은 중간체인 1-naphthyl-acetyl-L-glutamine로부터 목적물을 합성하는 경우 수율이 너무 낮아 이를 다시 ester로 한 다음 DMF용매 중에서 cyclization시켜 목적물을 얻었다. 또한 A10 analog이면서 thalidomide와 구조가 유사한 3-(치환 benzoyl)amino-2,6-piperidinedione유도체의 경우, 중간체로 benzoyl-L-glutamine를 합성하여 분자내 cyclization시키는 경우 합성수율이 대체로 낮아서 3-aminopiperidine-2,6-dione을 먼저 합성하고 여기에

acid halide를 가하여 목적물을 합성함으로 수율이 비교적 높았다. 우선 A10 analog의 경우 IR 스펙트럼을 보면 최종 목적물은 3300 cm<sup>-1</sup>부근에서 amide의 NH, 1660 cm<sup>-1</sup> 및 1730 cm<sup>-1</sup>부근에서 카르보닐기의 흡수를 볼 수 있었으며 또한 NMR스펙트럼에서도 piperidine-2,6-dione생성을 나타내는 1개의 이미드NH의 peak를 10.76 ppm에서 볼 수 있었다. Mannich 염기의 경우 2- 및 3-thienyl 동족체 및 1-naphthyl 동족체에 morpholine, piperidine, pyrrolidine 및 hexamethylenimine 등을 반응시켜 목적하는 각각의 Mannich 염기들을 얻었는데 이중 morpholine base의 합성이 가장 수율이 높았으며 pyrrolidine base를 이용한 Mannich base합성의 수율이 저조하였다. 이들 A10 analog의 IR스펙트럼의 경우 Mannich생성으로 인한 piperidine-2,6-dione의 imide NH 피크가 소실됨을 알 수 있었으며 NMR스펙트럼의 경우 역시 10.76 ppm에서 peak가 소실되고 amine의 cyclic CH<sub>2</sub> proton이 1.44~1.99 ppm에서 나타났으며 benzoyl 및 phenylpropionyl 동족체의 Mannich base도 유사한 결과를 나타냈었다.

**In vitro 항암시험** - 합성화합물의 항암시험결과 선도물질로 사용한 A10은 본 실험에서 사용한 5종의 고형암에 대해서 10-1,000 μg/ml에서 활성이 관찰되지

않았으며 탈리도마이드 역시 부분적으로 아주 약한 효과를 나타내었다. 목적화합물 2- 및 3-티에닐 동족체는 A10과 같이 상기 농도에서 거의 활성이 없는 반면 1-나프틸 동족체의 경우는 약하지만 활성을 나타내어 방향족 환의 치환에 따라 약간의 차이는 관찰되었으나 선도 물질의 활성이 거의없어 비교하기가 어려웠다. 페닐환과 아미드성 질소사이의 탄소수의 차이에 대한 효과도 탄소수가 하나 적으며 탈리도마이드와 구조유사한 benzoyl 동족체도 A10과 같이 활성이 나타나지 않은 반면, 그 치환체인 4-nitrobenzoyl 동족체는 약한 활성을 나타내었다. 탄소수가 하나 증가한 phenylpropionyl 동족체는 상기농도에서 항암활성을 나타낸 것으로 보아, 이 화합물의 페닐환에 각종 치환기를 도입에 따른 항암 효과와 또한 탄소수를 증가시켜 활성을 조사해 보는 것도 의의가 있다고 사료된다. 한편 이들의 Mannich 염기의 경우 거의 대부분 이들 동족체보다 10~50  $\mu\text{g/ml}$  우수한 항암활성이 나타내었으며 방향족환이나 탄소수의 차이에 따른 효과가 아주 약하거나 거의 나타나지 않았다. 선도 화합물이 임상(II)에 있고 고형암에도 효과가 있는 유망한 항암제임을 감안할 때 본 *in vitro* assay만으로 이들 화합물의 구조활성을 충분히 검토할 수 없으며 *in vivo* assay를 통해 그 효과를 비교해 보는 것이 타당하다고 사료된다. 또한 지금 항암제로 이용 가능성을 타진하고 있는 탈리도마이드 역시 같은 경향을 보이고 있어 그러한 연구의 필요성을 증대시킨다. 또한 이들의 Mannich 염기의 경우, A10은 같은 농도에서 효과가 없는 반면 상대적으로 활성의 큰 증가를 보여 앞으로 benzoyl 및 phenylpropionyl 동족체를 포함한 Mannich 염기화합물들에 대한 연구가 계속되어야 하리라고 생각된다.

## 결 론

1. 안티네오플라스톤 A10을 선도물질로하여 14종의 동족체류를 합성하고 이로 부터 14종의 Mannich 염기를 합성하였다.
2. A10의 동족체 화합물은 10~1000  $\mu\text{g/ml}$ 에서 활성이 약하거나 관찰되지 않은 반면 이들의 Mannich 염기는 대조적으로 10~50  $\mu\text{g/ml}$  정도의 우수한 항암 활성을 나타내었다.
3. 본 *in vitro* 항암시험에서 A10의 페닐환의 치환효과 및 페닐환과 아미드성 질소와의 결합거리 차이에 의

한 효과가 약하거나 관찰되지 않았다.

## 감사의 말씀

이 논문은 95년도 한국과학재단 핵심전문연구비(951-0710-017-1)와 95년도 보건 의료 기술연구 개발 사업의 연구비에 의해서 이루어졌음을 감사드립니다.

## 문 헌

- 1) Burzynski, S. R. : Biologically active peptides in human urine 1. Isolation of a group of medium-sized peptides. *Physiol. Chem. Phys.* **5**, 437-447 (1973).
- 2) Burzynski, S. R., Hendry, L. B., Mohabbat, M. O., Liau, M. C., Khalid, M. and Burzynski, B. : Purification, structure determination, synthesis and animal toxicity studies of antineoplaston A 10. *Proc. 13th Intl. Cong. Chemother.* (Vienna) **17**, PS 12. 4. 11-4 (1983).
- 3) Burzynski, S. R. : Antineoplastony, *Przegląd Lekarski* **6**, 583-586 (1978).
- 4) Burzynski, S. R. and Georgiades, J. : Effect of urinary peptides on DNA, RNA and protein synthesis in normal and neoplastic cells, *Fed. Proc.* **32**, 766 (1973).
- 5) Burzynski, S. R. : Synthetic antineoplastons and Analogs, *Drugs of the future* **11**, 679 (1986).
- 6) Burzynski, S. R. : Substituted piperidinediones, substituted phenylacetic acids, and substituted phenylacetylglutamines for treatment of AIDS, *U. S. US* **5**, 089, 508 (1992).
- 7) Burzynski, S. R. : Urine peptides for the treatment of Parkinson's disease, *PCT Int. Appl. WO* **9204**, 043, 19 Mar (1992).
- 8) Hendry, L. B., Diamond, A. H., Diamond, B. I. and Ewing, D. E. : Use of 3-N-phenylacetyl-amino-2,6-piperidinedione for treatment of neuropsychiatric disorders, *U.S. US* **4**, 705, 796 (1987).
- 9) Burzynski, S. R., Antineoplastons : Biochemical defense against cancer, *Physiol. Chem. Phys.* **8**, 275-279 (1976).
- 10) Burzynski, S. R., et al., Toxicology studies of

- oral formulation of antineoplaston A10 in cancer patients. *Drug Exp. Clin. Res.* **10**, 611-619 (1984).
- 11) Burzynski, S. R., et al. : Toxicology studies of oral formulation of antineoplaston A10 in cancer patients. *Drug Exp. Clin. Res.* **10**, 611-619 (1984).
- 12) Contrera, M. G. D., Casatti, L., Lopes, R. A., et al. : The teratogenicity study of Antineoplaston A10 injections in rat fetuses, *18th Int Cong Chemother* (June 27-July 2, Stockholm) 1993, Abst 5090.
- 13) Hendry L. B., Chu, C. K. and Mahesh, V. B. : Preparation of 3-phenylacetyl-aminopiperidine-2,6-diones as cytotoxic agents. PCT Int. Appl. WO91 16, 309, 31 Oct 1991, US Appl. 508, 839, 12 Apr (1990).
- 14) Choi, B. G., Seo, H. K., Chung, B. H., Choi, S. U., and Lee, C. O. : Synthesis of Mannich bases of antineoplaston A10 and their antitumor activity. *Arch. Pharm. Res.* **17**, 467-469 (1994).
- 15) Helm F. Cho, et al. : Comparative Teratological Investigation of compounds structurally and pharmacologically related to thalidomide. *Arzneim Forsch, Drug Res.* **31**, 941 (1981).
- 16) Service, R. F. Can thalidomide be rehabilitated? *Science* **269**, 1340 (1995).
- 17) De, A. U. and Pal, D. : Possible antineoplastic agents I. *J. Pharm. Sci.* **64**, 263 (1975).
- 18) Werner, W and Fritzsche, : Potentielle cytostatica durch aminomethylierung NH-acides hypnotika. *Archiv der Pharmazie* **302** Bd, 188-196 (1969).
- 19) Lee, J. w., Choi, J. w., Park, M. S., Synthesis and anticonvulsant evaluation of a series of N-Cbz-aminoglutaramides. *Arch. Pharm. Res.* **19**(3), 248-250 (1996).
- 20) Monks, A., Scudiero, D., Srehan, P., Shoemaker, R., Kenneth, P., David, V., Hose, C., Langley, J., and Cronise, P. : Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *J. Natl. Cancer Inst.* **83**, 757 (1991).