

N-Acyl- α -aminoglutarimide 계 화합물의 항경련 활성에 대한 N-Acyl기의 영향

손기천 · 최종원 · 신은화 · 박민수[#]

경성대학교 약학대학

(Received December 5, 2000; Revised January 12, 2001)

The effect of N-Acyl Groups on the Anticonvulsant Activities of N-Acyl- α -amino-N-methylglutarimides

Kichun Son, Jongwon Choi, Eunhwa Shin and Minsoo Park[#]

College of Pharmacy, Kyungsung University, Daeyoun-dong, Nam-gu, Pusan, Korea

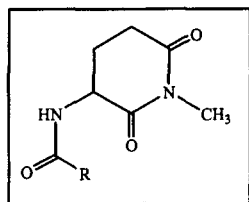
Abstract — For the purpose of defining the effects of N-acyl groups on the anticonvulsant activities of N-acyl- α -amino-glutarimides, various (R)- and (S)-N-acyl- α -aminoglutarimide were prepared from the corresponding N-Cbz-glutamic acid and were evaluated their anticonvulsant activities in the MES and PTZ test, including their neurotoxicities. Among the tested compounds, only (R) N-cinnamoyl- α -amino-N-methylglutarimide showed anticonvulsant activity in the MES and PTZ test. And the other tested compounds was active in the only PTZ test. The order of anticonvulsant activities in the PTZ test was as follows; for the (R) series, N-4-methoxycinnamoyl = cinnamoyl > N-4-nitrobenzoyl > N-benzoyl > N-phenylacetyl; for the (S) series, N-4-methoxycinnamoyl = N-3-nitrobenzoyl > N-4-nitrobenzoyl = N-cinnamoyl = N-phenylacetyl. From the above results, it was conceivable that the substituted N-acyl group had important effects on the anticonvulsant activities of these compounds. However stereoisomeric differences in the anticonvulsant activities were not exhibited clearly.

Keywords □ Anticonvulsant activities, PTZ test, MES test, N-acyl- α -aminoglutarimides

최근 박 등^{1,2)}은 신규 항경련성 화합물의 개발과 관련된 연구로서, N-acyl- α -aminoglutarimide 계열의 화합물들이 MES 및 PTZ 항경련 시험에서 매우 높은 항경련 활성을 보이며, 그 독성 및 활성으로 보아 신규 광범위 항경련제로서 개발 가능성이 높은 것으로 보고한 바 있다. 또한 N-acyl- α -aminoglutarimide 계열 화합물의 항경련 활성은 이들 화합물의 amino기에 치환된 acyl기나 imide 구조의 질소에 치환된 N-alkyl기에 따라 이들 화합물의 항경련 활성과 활성 범위에 차이가 있음을 알게 되었다.^{1,3)} 이들 치환기에 대한 연구의 일환으로 박 등³⁾은 그 중 imide의 질소에 다양

한 alkyl기를 도입, 그에 대한 항경련 활성을 검토한 바, imide의 질소에 methyl기가 치환된 N-Cbz- α -amino-N-methyl- α -aminoglutarimide 화합물이 가장 활성이 높으며, 치환된 alkyl기에 따라 활성의 차이를 보인다는 사실을 알게되었다. 이상의 결과를 통하여 본 계열 화합물의 항경련 활성에 각 관능기의 치환기가 매우 중요한 역할을 하고 있으며, 이에 대한 연구는 앞으로 본 계열 화합물의 항경련 활성을 증대시키기 위한 새로운 분자설계 연구에 중요한 정보를 제공할 수 있을 것으로 생각하였다. 따라서 본 연구자 등은 glutarimide 계열 화합물의 항경련 활성에 대한 각종 관능기의 영향을 좀 더 면밀하게 검토하기 위하여 다음의 연구를 하였다. 본 연구는 선행연구를 통하여 glutarimide 계열 화합물의 항경련 활성에 영향을 주는

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 051-620-4884 (팩스) 051-628-6540



1, 2

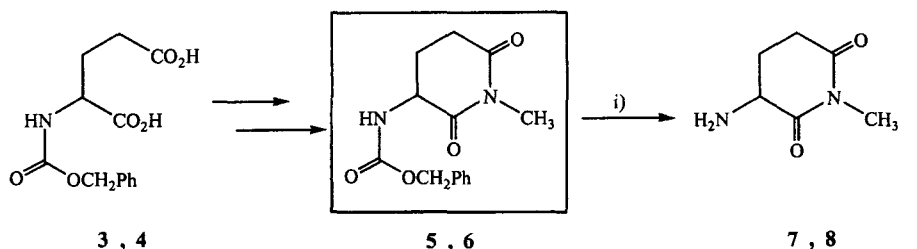
- | | |
|---|---|
| 1 a : (R), R = phenyl | 2 a : (S), R = phenyl |
| b : (R), R = 4 - nitrophenyl | b : (S), R = 4 - nitrophenyl |
| c : (R), R = 3 - nitrophenyl | c : (S), R = 3 - nitrophenyl |
| d : (R), R = 4 - fluorophenyl | d : (S), R = 4 - fluorophenyl |
| e : (R), R = benzyl | e : (S), R = benzyl |
| f : (R), R = 4 - methoxystyryl | f : (S), R = 4 - methoxystyryl |
| g : (R), R = styryl | g : (S), R = styryl |
| h : (R), R = cyclohexyl | h : (S), R = cyclohexyl |
| i : (R), R = n-C ₅ H ₁₁ | i : (S), R = n-C ₅ H ₁₁ |
| j : (R), R = vinyl | j : (S), R = vinyl |

Fig. 1.

것으로 알려진 또 하나의 관능기인 amino기의 치환체에 따른 활성의 변화에 중점을 두어 검토하였다. 즉 amino기에 여러 가지 N-acyl기를 도입하여, 그에 따른 N-acyl- α -aminoglutarimide에 대한 항경련 활성을 검토하여 보고자 하였다. 구조 변환의 선도 물질로서는 선행연구 결과³⁾ imide의 N-alkyl 치환 화합물 중 가장 높은 항경련 활성을 보인 imide의 질소가 N-methyl기로 치환된 N-Cbz- α -amino-N-methylglutarimide를 선택하였으며, N-methyl기는 그대로 고정하고, Cbz기만을 다양한 acyl기로 변환, Fig. 1의 1, 2와 같은 화합물을 합성하여, 그에 대한 항경련 활성을 검토하였다.

실험방법

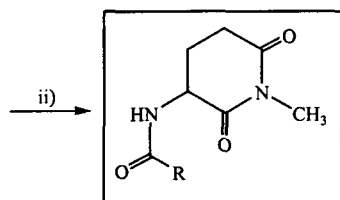
시약 및 기기 - 실험 편에서 언급된 용점(mp)는 electrothermal digital melting point 장치(영국산)로 측정하였으며, 보정하지 않았다. 적외선 spectrum(IR spectrum)은 KBr disk법으로 JASCO FT/IR 200(일본산)을 측정기기로 사용하였으며, 강하게 나타나거나, 구조적으로 의미 있는 peak만을 cm⁻¹로 표시하였다. 수소 핵자기공명 spectrum(¹H NMR spectrum)은 DMSO-d₆를 용매로 하여 JNM-EX -90A(일본산)을 사용하여 측정하였으며, TMS(tetramethylsilane)을 내부 표준물질로 하여 δ 값을 ppm으로 표시하였다. 본 실험



3, 4

5, 6

7, 8



1, 2

- | | |
|---|---|
| 1 a : (R), R = phenyl | 2 a : (S), R = phenyl |
| b : (R), R = 4 - nitrophenyl | b : (S), R = 4 - nitrophenyl |
| c : (R), R = 3 - nitrophenyl | c : (S), R = 3 - nitrophenyl |
| d : (R), R = 4 - fluorophenyl | d : (S), R = 4 - fluorophenyl |
| e : (R), R = benzyl | e : (S), R = benzyl |
| f : (R), R = 4 - methoxystyryl | f : (S), R = 4 - methoxystyryl |
| g : (R), R = styryl | g : (S), R = styryl |
| h : (R), R = cyclohexyl | h : (S), R = cyclohexyl |
| i : (R), R = n-C ₅ H ₁₁ | i : (S), R = n-C ₅ H ₁₁ |
| j : (R), R = vinyl | j : (S), R = vinyl |

i) Pd / C / MeOH, r.t., 2-3hrs., quant.

ii) a) ROCl / NaCO₃ / H₂O-Acetone, 0°C., 4-5hrs.

b) RCO₂H / DEPC / Triethylamine / DMF, r.t., 4-5hrs.

Scheme 1 - Synthesis of N-Acyl- α -amino-N-methylglutarimide.

에 사용되는 반응 용매는 모두 특급(GR grade)을 사용하였으며, column chromatography는 silica gel (Merck, 230~400 mesh)를 사용하였다. 항경련 활성 및 신경독성 검색방법은 National Institute of Neurological Disorder and Stroke의 항경련성 물질 개발 프로그램에서 제시하는 방법으로서, Swinyard의 검색 방법⁴⁾에 준하여 행하였다.

화합물의 합성 - 목적 화합물은 N-Cbz-glutamic acid를 출발물질로 하여, 선행연구의 합성 방법¹⁻³⁾에 준하여 N-Cbz- α -amino-N-methylglutarimide를 합성하고, Pd/C로 hydrogenolysis 시켜 α -amino-N-methylglutarimide를 중간체로 얻은 후, 본 화합물로부터 해당되는 acylchloride 혹은 해당되는 carboxylic acid와 축합체로서 Diethyl phosphoroyanidate(DEPC)를 사용하여 N-acylation시켜, 목적화합물을 합성하였다.

본 화합물의 합성방법을 요약하면 Scheme 1과 같다.

(R)- α -amino-N-methylglutarimide (7)의 합성

(R)-N-Cbz- α -aminoglutarimide (552 mg)을 methanol (50 mL)에 녹인후, 10% Pd/C 50 mg을 넣은 후 상온에서 수소 gas를 2~3시간 동안 통과 시켰다. 그 후 여과한 후 감압 증발시켜 조생성물 270 mg을 oil상으로 얻었다. 얻은 화합물은 더 이상 정제하지 않고 다음 반응에 이용하였다.

IR(neat) cm^{-1} : 1670, 1710, 1730, 3300

(S)- α -amino-N-methylglutarimide (8)의 합성

실험 방법과 IR은 7와 동일 하다.

(R)-N-benzoyl- α -amino-N-methylglutarimide (1a)의 합성

(R)- α -amino-N-methylglutarimide (282 mg)과 Na_2CO_3 (254 mg)을 acetone (3 mL)와 물(3 mL)의 혼합 용액에 녹인 후, 그 용액에 benzoylchloride (337 mg)을 acetone (3 mL)에 녹여 천천히 적가 하였다. 그 반응 용액을 4~5시간 동안 상온에서 교반하였다. 반응이 끝난 후 약 1/2정도로 감압 증발시켜 농축한 후, 그 농축액을 EtOAc 200 mL에 녹이고, EtOAc층을 10% NaHCO_3 (25 mL \times 2), 5% HCl 수용액(25 mL \times 2), 물(25 mL \times 2) 그리고 포화 식염수(25 mL \times 2)로 세척한 후 MgSO_4 로 탈수시키고 여과한 후 감압 증발

시켜 갈색 고체를 얻었다. 얻어진 조생성물은 silica gel column chromatography (EtOAc:Hexane = 2:1)로 정제하여 313.6 mg의 흰색 고체를 얻었다(64%).

mp: 160.2°C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +25.496$ (c=1.00, CH_3OH); IR(KBr) cm^{-1} : 1680, 1725, 3360; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 1.60~2.00(2H, m), 2.40~2.60(1H, m), 2.60~2.90(1H, m), 3.20(3H, s), 4.60~4.90(1H, m), 7.10~7.30(1H, br), 7.30~7.50(3H, m), 7.60~7.90(2H, m)

(S)-N-benzoyl- α -amino-N-methylglutarimide (2a)의 합성

수율 61%; mp: 160.7°C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} : -25.956$ (c=1.00, CH_3OH); IR과 $^1\text{H-NMR}$ spectrum은 1a와 동일

(R)-N-4-nitrobenzoyl- α -amino-N-methylglutarimide (1b)의 합성

수율 61%; mp: 209.9°C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +36.290$ (c=1.00, CH_3OH); IR(KBr) cm^{-1} : 1670, 1730, 3350; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 1.80~2.10(2H, m), 2.20~2.50(1H, m), 2.70~3.00(1H, m), 3.20(3H, s), 4.60~5.00(1H, m), 8.00~8.40(4H, m), 8.80~9.00(1H, br)

(S)-N-4-nitrobenzoyl- α -amino-N-methylglutarimide (2b)의 합성

수율 60%; mp: 209.7°C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -36.490$ (c=1.00, CH_3OH); IR 및 $^1\text{H-NMR}$ spectrum은 1b와 동일

(R)-N-3-nitrobenzoyl- α -amino-N-methylglutarimide (1c)의 합성

수율 61.5%; mp: 149.2°C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +27.628$ (c=1.00, CH_3OH); IR(KBr) cm^{-1} : 1685, 1740, 3370; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 1.70~2.10(2H, m), 2.50~2.70(1H, m), 2.70~2.90(H, m), 3.20(3H, s), 4.60~5.00(1H, m), 7.50~7.80(2H, m), 8.10~8.50(2H, m), 8.60(1H, s)

(S)-N-3-nitrobenzoyl- α -amino-N-methylglutarimide (2c)의 합성

수율 62%; mp: 152.6°C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -27.552$ (c=1.00, CH_3OH); IR 및 $^1\text{H-NMR}$ spectrum은 1c와 동일

(R)-N-4-fluorobenzoyl- α -amino-N-methylgluta-

rimide (1d)의 합성

100 mL의 one-armed round flask에 α -amino-N-methylglutarimide (282 mg)과 4-fluorobenzoic acid (280 mg)을 넣고, N₂ gas로 치환시킨 후 DMF (5.6 mL)를 가하여 완전히 용해시켰다. 그 반응 용액에 DEPC (358 mg)을 DMF (3.6 mL)에 녹여 천천히 적가한 후, 계속하여 triethylamine (222 mg)을 DMF (2.2 mL)에 녹여 천천히 적가하고, 그 반응 용액을 0°C에서 4~5시간 정도 교반하였다. 반응이 끝난 후 약 250 mL의 EtOAc에 반응 용액을 희석시키고, H₂O (25 mL×2), 5% HCl 수용액 (25 mL×2), 10% NaHCO₃ 수용액 (25 mL×2) 그리고 포화 식염수 (25 mL×2)로 계속하여 세척하고, 무수 MgSO₄로 탈수시켰다. 여과 후 EtOAc 용액을 감압 증발시켜 조생성물을 얻은 후, 생성된 조생성물을 column chromatography (EtOAc : hexane = 4 : 1)하여 흰색 고체 384 mg을 얻었다(73%).

mp : 167.1°C; $[\alpha]_D^{25} = +26.660$ (c=1.00, CH₃OH); IR(KBr)cm⁻¹: 1680, 1720, 3370; ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.60~2.00(2H, m), 2.40~2.60(1H, m), 2.60~2.80(1H, m), 3.20(3H, s), 4.50~4.80(1H, m), 6.90~7.20(3H, m), 7.70~7.90(2H, m)

다음 생성물은 1d의 합성방법에 준하여 합성하였다.

(S)-N-4-fluorobenzoyl- α -amino-N-methylglutarimide (2d)의 합성 수율

수율 75%; mp : 170.4°C; $[\alpha]_D^{25} = -26.472$ (c=1.00, CH₃OH); IR 및 ¹H-NMR spectrum은 1d와 동일

(R)-N-phenacetyl- α -amino-N-methylglutarimide (1e)의 합성

수율 65%; mp : 91.7°C; $[\alpha]_D^{25} = +32.072$ (c=1.00, CH₃OH); IR(KBr)cm⁻¹: 1670, 1730, 3260; ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.60~2.00(2H, m), 2.50~2.70(1H, m), 2.70~2.90(1H, m), 3.10(3H, s), 3.60(2H, s), 4.30~4.60(1H, m), 6.40~6.60(1H, br), 7.31(5H, s)

(S)-N-phenacetyl- α -amino-N-methylglutarimide (2e)의 합성

수율 66%; mp : 89.7°C; $[\alpha]_D^{25} = -31.876$ (c=1.00, CH₃OH); IR 및 ¹H-NMR spectrum은 1e와 동일

(R)-N-4-methoxycinnamoyl- α -amino-N-methylglutarimide (1f)의 합성

수율 67.5%; mp : 164.2°C; $[\alpha]_D^{25} = +35.560$ (c=1.00, CH₃OH); IR(KBr)cm⁻¹: 1680, 1730, 3400; ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.60~2.00(2H, m), 2.40~2.60(1H, m), 2.60~2.90(1H, m), 3.18(3H, s), 3.80(3H, s), 4.50~4.80(1H, m), 6.40(1H, d, *J*=14 Hz), 6.60~6.80(1H, br), 6.80~7.00(2H, m), 7.30~7.50(2H, m), 7.60(1H, d, *J*=14 Hz)

(S)-N-4-methoxycinnamoyl- α -amino-N-methylglutarimide (2f)의 합성

수율 68%; mp : 159.2°C; $[\alpha]_D^{25} = -35.452$ (c=1.00, CH₃OH); IR 및 ¹H-NMR spectrum은 1f와 동일

(R)-N-cinnamoyl- α -amino-N-methylglutarimide (1g)의 합성

수율 67%; mp : 145.8°C; $[\alpha]_D^{25} = +35.488$ (c=1.00, CH₃OH); IR(KBr)cm⁻¹: 1670, 1740, 3390; ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.60~2.10(2H, m), 2.40~2.60(1H, m), 2.60~2.90(1H, m), 3.20(3H, s), 4.50~4.90(1H, m), 6.50(1H, d, *J*=14 Hz), 6.80~7.00(1H, br), 7.20~7.50(4H, m), 7.70(1H, d, *J*=14 Hz)

(S)-N-cinnamoyl- α -amino-N-methylglutarimide (2g)의 합성

수율 69%; mp : 146.2°C; $[\alpha]_D^{25} = -35.660$ (c=1.00, CH₃OH); IR 및 ¹H-NMR spectrum은 1g와 동일

(R)-N-cyclohexanoyl- α -amino-N-methylglutarimide (1h)의 합성

수율 70%; mp : 146.2°C; $[\alpha]_D^{25} = +29.992$ (c=1.00, CH₃OH); IR(KBr)cm⁻¹: 1690, 1730, 3290; ¹H-NMR(DMSO-*d*₆): δ 1.00~2.10(13H, m), 2.40~2.60(1H, m), 2.60~2.90(1H, m), 3.20(3H, s), 4.30~4.60(1H, m), 6.30~6.50(1H, br)

(S)-N-cyclohexanoyl- α -amino-N-methylglutarimide (2h)의 합성

수율 71%; mp : 144.9°C; $[\alpha]_D^{25} = -29.148$ (c=1.00, CH₃OH); IR 및 ¹H-NMR spectrum은 1h와 동일

(R)-N-hexanoyl- α -amino-N-methylglutarimide (1i)의 합성

수율 75%; mp : 60.9°C; $[\alpha]_D^{25} = +35.796$ (c=1.00, CH₃OH); IR(KBr)cm⁻¹: 1690, 1740, 3310, 3390; ¹H-NMR(DMSO-*d*₆): δ 0.95(3H, t, *J*=6.8 Hz), 1.10~1.50(6H, m), 1.50~1.90(2H, m), 2.50~2.60(3H, m), 2.60~3.00(1H, m), 3.20(3H, s), 4.40~4.80(1H, m), 6.60~6.80(1H, br)

(S)-N-hexanoyl- α -amino-N-methylglutarimide (2i)의 합성

수율 76%; mp : 57.6°C; $[\alpha]_D^{25} = -35.300$ (c=1.00%, CH₃OH); IR 및 ¹H-NMR spectrum은 1i와 동일

(R)-N-acryloyl- α -amino-N-methylglutarimide (1j)의 합성

수율 61.5%; oil; $[\alpha]_D^{25} = +7.360$ (c=1.00, CH₃OH); ¹H-NMR(DMSO-*d*₆): δ 1.20~1.60(2H, m), 2.30~2.60(H, m), 2.60~3.00(1H, m), 3.20(3H, s), 4.00~4.70(1H, m), 5.60~5.80(1H, m), 5.80~6.00(1H, m), 6.20~6.40(1H, m), 6.80~7.00(1H, br)

(S)-N-acryloyl- α -amino-N-methylglutariide (2j)의 합성

수율 62%; oil; $[\alpha]_D^{25} = -7.360$ (c=1.00, CH₃OH); IR 및 ¹H-NMR spectrum은 1j와 동일.

항경련 활성 시험

항경련 시험은 미국 NIH의 항경련 활성물질 검색 program에서 채택되고 있는 방법인 Swinyard의 항경련 활성 검색 방법⁴⁾에 준하여 행하였다. 즉 항경련 활성은 무게 20 g 내외의 웅성 ICR mice를 시험동물로 사용하였으며, 시험에 사용된 화합물은 polyethylene glycol 400에 녹여 ip로 투여한 후, 30분 후에 다음의 항 경련 활성 시험을 하였다.

최대 전기자극 경련 시험(Maximal electroshock test, MES test) - 무게 20 g 내외의 웅성 ICR mice 4마리를 1군으로 하여, 시험에 사용되는 화합물을 polyethyleneglycol 400에 녹여, 정량을 ip로 투여한 후, 30분 후에 경련유발 시험을 행하였다. 전기자극은 mice의 양눈에 0.9% 식염수를 떨어뜨리고, ECT Unit(UGO Basline, Itlay)를 사용하여, a.c. 50 mA,

60 cycle의 세기로 0.2 초간 electrod를 사용하여, 양 눈에 전기자극을 주었다. 본 시험의 경우, 뒷다리의 강제성 경련(hind limb tonic extension)의 유무를 항경련 활성의 기준으로 삼았다.

본 항경련 활성의 경우 1차 항경련 활성 검색 시 본 시험에 사용하는 화합물의 투여 용량을 일반적으로 25, 50, 75, 100, 150 mg/kg으로 구분 투여한 후, 각각 본 시험을 행하였으며, 아울러 100% 경련이 일어나는 최대 용량도 결정하였다.

또한 100 mg/kg의 용량에서 4마리 중 적어도 1마리가 항 경련 활성을 보이는 경우에 한해서, 용량을 좀 더 세분하여 투여한 후, 같은 방법으로 항 경련 활성을 검색하여, 통상적인 ED₅₀결정 방법에 준하여, ED₅₀를 결정하였다.

Pentylene-tetrazole 유발경련시험(pentylene-tetrazole induced seizure test, PTZ test) - 무게 20 g 내외의 웅성 ICR mice 4마리를 1군으로 하여, 시험에 사용되는 화합물을 polyethyleneglycol 400에 녹여, 정량을 ip로 투여한 후, 30분 후에 경련유발 시험을 행하였다. 본 시험의 경우, pentylene-tetrazole을 0.5% saline 용액으로 조제한 후, 80 mg/kg의 용량으로 mice의 posterior midline에 s.c로 주사한 후, 30분간 관찰하였다. 본 시험의 경우 최소 5초간의 간헐성 경련(a single episode of clonic spasm of at least 5 sec. duration)의 유무를 항경련 활성의 기준으로 삼았다.

본 항경련 활성의 경우 1차 항 경련활성 검색시 본 시험에 사용하는 화합물의 투여 용량을 일반적으로 25, 50, 75, 100, 150 mg/kg으로 구분 투여한 후, 각각 본 시험을 행하였으며, 아울러 100% 경련이 일어나는 최대 용량도 결정하였다.

또한 100 mg/kg의 용량에서 4마리 중 적어도 1마리가 항경련 활성을 보이는 경우에 한해서, 용량을 좀 더 세분하여 투여한 후, 같은 방법으로 항경련 활성을 검색하여, 통상적인 ED₅₀결정 방법에 준하여, ED₅₀를 결정하였다.

Rotorod 시험(Rotorod test) - 운동 신경에 대한 본 시험 화합물의 신경독성을 평가하는 방법으로서, 미리 본 시험의 조건에서 훈련된 mice를 대상으로 본 시험을 행하였다.

즉 항경련 시험에서와 동일한 방법으로 약물을 투여

한 후, 미리 훈련된 웅성 ICR mice 5마리를 Rotorod treadmill for mice(UGO Basline, Itlay)를 이용, 6 rpm으로 돌고 있는 직경 1 inch의 plastic 봉에 올려 놓은 후, 약 2분간 관찰하여 그 낙하 유무를 관찰, 신경독성을 판정하였다. 본 시험 에서도 일반적인 방법에 의하여, TD₅₀를 결정하였다.

실험결과 및 고찰

본 연구의 목적화합물은 Scheme 1에서와 같이 N-

Table I - Anticonvulsant Activity of (R)-N-acyl- α -amino-glutarimides (**1**) in Mice

Compound	Config.	R	Dose ^a	MES ^b	PTZ ^c
1a	R	phenyl	25		4/4
			50		2/4(3/4) ^e
			75		1/4
			100	4/4(3/4) ^d	0/4
1b	R	4-nitrophenyl	100	4/4	4/4(3/4) ^d
1c	R	3-nitrophenyl	25		3/4(4/4) ^f
			50		1/4(2/4) ^e
			75		0/4
			100	4/4	
1d	R	4-fluorophenyl	100	4/4	4/4
1e	R	benzyl	25		4/4
			50		3/4
			75		2/4
			100	4/4	1/4(0/4) ^g
1f	R	4-methoxystyryl	25		2/4(4/4) ^f
			50		1/4
			75		0/4
			100	4/4	
1g	R	styryl	25	3/4(4/4) ^f	2/4(4/4) ^f
			50	2/4	1/4
			75	1/4	0/4
			100	0/4	
1h	R	cyclohexyl	100	4/4	4/4
1i	R	n-C ₅ H ₁₁	100	4/4	4/4
1j	R	vinyl	100	4/4	4/4

^aAll compounds were dissolved in polyethyleneglycol 400 and administered i.p. to ICR male mice. Dose was denoted in mg/kg. ^bThe MES test: 50 mA, 60 Hz, ac, 0.2 sec., via corneal electrodes, 30 min post administration of test compound. And the results were denoted as non-protected animals/tested animals. ^cThe PTZ test: Subcutaneous pentylenetetrazol (80 mg/kg) 30 min post administration of test compound. And the results were denoted as non-protected animals/tested animals. ^dat a dose of 200 mg/kg. ^eat a dose of 40 mg/kg. ^fat a dose of 10 mg/kg. ^gat a dose of 125 mg/kg.

Cbz-glutamic acid를 출발물질로 하여, 선행연구의 합성 방법^{1,2)}에 준하여 N-Cbz- α -amino-N-methylglutarimide를 합성한 후, Pd/C로 hydrogenolysis 시켜 α -amino-N-methylglutarimide를 합성 중간체로 하여, 본 화합물로부터 해당되는 acylchloride 혹은 해당되는 carboxylic acid와 축합체로서 Diethyl phosphoroyanidate(DEPC)를 사용하여 N-acylation 시켜, 양호한 수율로 목적 화합물을 합성하였다. 합성된 목적 화합물은 IR, ¹H-NMR을 통하여 구조를 확인하였으며, 목적 화합물의 구조와 잘 일치하였다.

이상의 방법으로 목적 화합물을 합성한 후 합성된 화합물에 대하여 NIH에서 제시하는 항경련 활성 검색

Table II - Anticonvulsant Activity of (S)-N-acyl- α -amino-glutarimides (**2**) in Mice

Compound	Config.	R	Dose ^a	MES ^b	PTZ ^c
2a	S	phenyl	100	4/4(2/4) ^d	4/4(3/4) ^d
			50		4/4
			75		3/4
			100	4/4(4/4) ^d	2/4(0/4) ^e
2b	S	4-nitrophenyl	25		3/4
			50		1/4(4/4) ^f
			75		0/4
			100	4/4	
2c	S	3-nitrophenyl	25		1/4(4/4) ^f
			50		0/4
			75	4/4	
			100	3/4	
2d	S	4-fluorophenyl	100	4/4	4/4
			50		4/4
			75		3/4
			100	4/4	2/4(0/4) ^e
2e	S	benzyl	25		2/4(4/4) ^f
			50		0/4(1/4) ^g
			75		
			100	4/4	
2f	S	4-methoxystyryl	25		2/4(0/4) ^e
			50		2/4(4/4) ^f
			75		0/4(1/4) ^g
			100	4/4	
2g	S	styryl	50		4/4
			75		3/4
			100	4/4	2/4(0/4) ^e
			100	4/4	4/4
2h	S	cyclohexyl	100	4/4	4/4
2i	S	n-C ₅ H ₁₁	100	4/4	4/4
2j	S	vinyl	100	4/4	4/4

^aAll compounds were dissolved in polyethyleneglycol 400 and administered i.p. to ICR male mice. Dose was denoted in mg/kg. ^bThe MES test: 50 mA, 60 Hz, ac, 0.2 sec., via corneal electrodes, 30 min post administration of test compound. And the results were denoted as non-protected animals/tested animals. ^cThe PRZ test: Subcutaneous pentylenetetrazol (80 mg/kg) 30 min post administration of test compound. And the results were denoted as non-protected animals/tested animals. ^dat a dose of 200 mg/kg. ^eat a dose of 150 mg/kg. ^fat a dose of 10 mg/kg. ^gat a dose of 40 mg/kg.

Table III – The Selected Anticonvulsant Evaluation of N-acyl- α -aminoglutaramides (**1** and **2**) in Mice

Compound	Config.	R	TD ₅₀ ^b (mg/kg)	ED ₅₀ (mg/kg) ^a	
				MES(PI) ^c	PTZ(PI) ^d
1a	R	phenyl	125.0		56.9(2.2)
1c	R	3-nitrophenyl	100.0		39.4(2.5)
1e	R	benzyl	146.9		75.0(2.0)
1f	R	4-methoxystyryl	125.0		34.4(3.6)
1g	R	stryl	125.0	51.3(2.4)	34.4(3.6)
2b	S	4-nitrophenyl	150.0		100.0(1.8)
2c	S	3-nitrophenyl	100.0		36.9(2.7)
2e	S	benzyl	125.0		100.0(1.3)
2f	S	4-methoxystyryl	100.0		36.9(2.7)
2g	S	stryl	100.0		100.0(1.0)
		Diphenylhydantoin ^e	65.4	9.5(6.9)	f
		Phenobarbital ^e	69.0	21.8(3.1)	13.1(5.3)
		Ethosuximide ^e	440.8	f	130.4(3.4)
		Methosuximide ^e	130.1	42.6(3.1)	34.5(3.7)
		Valproic acid ^e	425.8	271.1(1.6)	148.6(2.9)
		Trimethadione ^e	1070.0	704.2(1.5)	250.5(4.3)

^aAll compounds were administered ip to ICR male mice and all anticonvulsant tests were performed in groups of 4 mice 30 in after test compound administration. ^bRotarod test for neurotoxicity in groups of 5 mice. ^cmaximal electric shock seizure test : 50 mA, 60 Hz, ac, 0.2 s. and PI is protective index (TD₅₀/ED₅₀) ^dSubcutaneous pentylenetetrazole (80 mg/kg) induced seizure test. ^eRef 32. ^fnot effect

방법⁴)에 준하여, MES 경련 시험 및 PTZ 경련 시험의 항경련 활성 검색을 시행하였다.

각 화합물에 대한 1차 항경련 활성 검색 결과는 Table I 및 Table II와 같다.

Table I, II에서 보듯이 (R)-N-4-cinnamoyl- α -amino-N-methylglutaramide 화합물 (**1g**)과 (S)-N-3-nitrobenzoyl- α -amino-N-methylglutaramide 화합물 (**2c**)은 MES 항경련 시험 결과 100 mg/kg의 용량에서 항경련 활성이 나타나는 것으로 판명되었다. 그러나 그 외의 화합물은 MES 항경련 시험 결과 100 mg/kg의 용량에서 아무런 항경련 활성을 보이지 않았다.

한편 PTZ 항경련 시험에서는 (R)-N-benzoyl- α -amino-N-methylglutaramide (**1a**), (R)-N-3-nitrobenzoyl- α -amino-N-methylglutaramide (**1c**), (R)-N-phenylacetyl- α -amino-N-methylglutaramide (**1e**), (R)-N-4-methoxycinnamoyl- α -amino-N-methylglutaramide (**1f**), (R)-N-cinnamoyl- α -amino-N-methylglutaramide (**1g**), (S)-N-4-nitrobenzoyl- α -amino-N-methylglutaramide (**2b**), (S)-N-3-nitrobenzoyl- α -amino-N-methylglutaramide (**2c**), (S)-N-phenylacetyl- α -amino-N-methylglutaramide (**2e**), (S)-N-4-methoxycinnamoyl- α -amino-N-methylglutaramide (**2f**), (S)-N-cinnamoyl- α -amino-N-methylglutaramide (**2g**), 화합물은 100 mg/kg에서 항경련 활성을 보이는 것으로 나타났다.

따라서 100 mg/kg의 용량에서 MES 또는 PTZ 항경련 활성 검색에서 활성을 보이는 화합물 **1a, c, e, f, g, 2b, c, e, f, g**을 대상으로 2차 항경련 활성평가 화합물로 선정하였다.

2차 항경련 활성 시험에서는, 각 투여 용량을 세분하여 투여한 후 항경련 활성 검색을 시행, 각 활성 화합물에 대한 ED₅₀를 결정하고자 하였다. 아울러 활성을 보이는 화합물에 대하여, 신경독성을 검색하기 위하여 rotorod test도 병행하여 시행하였다. 1차 활성 검색 결과 양호한 항경련 활성을 보이는 화합물로 선정된 화합물에 대한 2차 항경련 활성 검색 결과는 Table III와 같다.

Table III에서 보는 바와 같이 (R) 혹은 (S)-N-acyl- α -amino-N-methylglutaramide 화합물은 MES 와 PTZ 항경련 활성 시험에 대한 ED₅₀를 결정하여 본 결과, (R)-N-cinnamoyl- α -amino-N-methylglutaramide 화합물 **1g**의 경우, MES 및 PTZ 항경련 시험에서 모두 양호한 활성을 보이는 것으로 나타났으며, ED₅₀는 MES 경련 시험의 경우 51.3 mg/kg이었으며 PTZ 경련 시험의 경우 ED₅₀는 34.4 mg/kg으로 시험 화합물

중 가장 강한 활성을 보였다. 본 화합물의 항경련 활성을 현재 항경련제로 사용되고 있는 여러 가지 화합물의 항경련 활성에 대한 *in vivo* 항경련 활성과 비교하여 볼 때, 매우 우수한 항경련 활성을 보이는 것으로 생각된다. 특히 본 화합물의 항경련 활성은 현재 비교적 광범위한 항경련 활성을 보이는 항경련제로서 임상적으로 변용되고 있는 valproic acid에 비해 MES 경련 시험의 경우는 약 5.3배, PTZ 경련시험의 경우는 약 4.3배의 강한 항경련 활성을 보이는 것으로 나타났다.

또한 임상적으로 매우 우수한 항경련제로 알려져 있는 diphenylhydantoin이 *in vivo* 항경련 활성 검색에서 MES 경련 시험에만 활성을 보이는 반면, 새로이 합성된 화합물은 MES 및 PTZ 등 두 가지의 경련 시험에서 모두 우수한 항경련 활성을 보였다. 이 같은 결과로 보아 diphenylhydantoin이 임상적으로 MES 경련 활성과 관계가 있는 강직 간대성 경련 증상에만 적용되고 있으나, 신규 합성된 화합물은 diphenylhydantoin 보다 광범위한 경련 양상에 적용될 수 있을 것으로 생각된다. 또한 본 화합물에 대한 신경독성 (neurotoxicity)을 평가하기 위해, NIH의 기준에 따라 rotarod시험을 하였다.

그 결과 Table III에서 보듯이 신경독성에 대한 TD_{50} 는 100~150 mg/kg 정도로 나타났다. 이는 현재 사용 중인 다른 항경련제와 비교하여 볼 때, 양호한 수준으로 생각된다. 아울러 항경련성 화합물의 경우 그 안정성에 대한 판단의 기준으로서 제시되는 Protective Index(PI)를 결정하여 본 바, 기타 다른 항경련제와 비교하여 볼 때, 대개 양호한 수준으로 나타났다. 특히 가장 강한 활성을 보이는 (R)-N-cinnamoyl- α -amino-N-methylglutarimide (1g)의 PI는 MES의 경우 2.4, PTZ 경련시험의 경우 3.6 정도로서 현재 항경련제로 사용되고 있는 valproic acid와 비교하여 볼 때 각각 1.5배 정도 높게 나타났다. 따라서 본 화합물은 현재 사용 중인 타 경련제와 비교하여 신경독성 또한 양호한 수준인 것으로 생각된다. 한편 N-acyl- α -amino-N-methylglutarimide 화합물의 항경련 활성은 Table III에서 보듯이 이들 화합물의 stereochemistry와 amino기의 N-치환 acyl기에 따라 이들 화합물의 항경련 활성이 다음과 같이 다르게 나타났다.

즉 N-acyl- α -amino-N-methylglutarimide 화합물의 PTZ 경련시험에서의 활성은 amino기에 치환된 acyl기

에 대하여 다음의 순서로 항경련 활성을 나타냈다. (R) 화합물의 경우는 N-4-methoxycinnamyl = N-cinnamyl > N-3-nitrobenzoyl > N-benzoyl > N-phenylacetyl의 순으로, (S) 화합물의 경우는 N-4-methoxycinnamyl = N-3-nitrobenzoyl > N-4-nitrobenzoyl, N-cinnamyl, N-phenylacetyl 순으로 항경련 활성의 차이를 보였다. 그러나 현재까지의 결과로 볼 때 각 화합물의 stereochemistry에 대한 일반적 경향은 보이지 않는 것으로 나타났다.

결 론

본 연구자 등은 보다 항경련 활성이 높은 화합물이 창출하고, 아울러 각 관능기에 대한 구조 활성 상관관계를 검토하기 위하여 선행 연구결과 가장 활성이 높은 (R) 혹은 (S)-N-Cbz- α -amino-N-methylglutarimide를 선도물질로 하여, N-치환 acyl기를 다른 여러 가지 acyl기로 치환된 화합물을 설계하고 합성하여, 그에 대한 항경련 활성을 검토하였다.

그 결과 가장 강한 활성을 보이는 화합물은 (R)-N-cinnamoyl- α -amino-N-methylglutarimide으로서, ED_{50} 는 MES 경련시험의 경우 51.3 mg/kg, PTZ 경련시험의 경우 34.4 mg/kg이었으며 valproic acid와 비교하여 볼 때 각각 5.2배 및 4.3배 정도 높게 나타났다. 또한 본 화합물에 대한 신경독성에 대한 안정성을 검토하기 위해 PI를 측정한 결과, 가장 강한 활성을 보이는 (R)-N-cinnamoyl- α -amino-N-methylglutarimide 화합물의 경우, MES 경련시험에서는 2.4, PTZ 경련시험에서는 3.6 정도로서 valproic acid와 비교하여 볼 때 각각 1.2~1.5배 정도 높게 나타났다.

따라서 본 화합물은 비교적 높은 안정성을 보이는 것으로 생각된다. 또한 본 계열의 화합물은 N-acyl기에 따라 경련 활성의 차이를 보였으나, 각 enantiomer 간의 항경련 활성은 예상과는 달리 일정한 경향을 나타내지는 않는 것으로 생각된다.

이상의 결과로 보아, 본 계열 화합물의 항경련 활성에 N-acyl기가 매우 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다.

감사의 말씀

본 논문은 1998년 경성대학교 학술연구조성 연구비

로 수행되었음.

문 헌

- 1) Lee, J., Choi, J. and Park, M. : Synthesis and Anticonvulsant Evaluation of A Series of N-Cbz- α -aminoglutarimides. *Arch. Pharm. Res.*, **19**, 248 (1996).
- 2) Park, M., Lee, J. and J Choi. : Synthesis and Anticonvulsant Evaluation of (R) -and (S)-N-Cbz- α -aminoglutarimide and succinimide. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **6**, 1297 (1996).
- 3) Jaewon Lee, Kichun Son, Minjeong Kim, Gyungim Jung, Jongwon Choi, Eungseok Lee, and Minsoo Park, The Effect of N-substituted Alkyl Groups on Anticonvulsant Activities of N-Cbz- α -amino-N-alkylglutarimides. *Arch. Pharm. Res.* **22**, 491 (1999).
- 4) Swinyard, E. A., Woodhead, J. H., White, H. S. and Frankline, M. R. : General Principles, Experimental Section, Quantification and Evaluation of Anticonvulsants in Antiepileptic Drugs, 3rd Ed: In Levy, R., *et al.*, (Eds.), Raven Press, N.Y., 1989, p. 88.
- 5) D. T. Witak, S. K. Seth, E. R. Baizman, S. L. Wiebel, and H. H. Wolf, Para-substitued N-Acetyl-L(S)-and-D(R)- α -amino-N-phenylsuccinimides and -glutarimides. Substituent effects on Stereoselective Anticonvulsant Activity. *J. Med. Chem.*, **15**, 1117 (1972).