

## Dual Action 기능을 가지도록 설계한 항경련성 전구약물의 합성과 항경련 활성

김은경 · 최병기 · 김종걸 · 이정희\* · 최종원\* · 이응석#

영남대학교 약학대학, \*경성대학교 약학대학

(Received March 30, 2004; Revised May 20, 2004)

### Design and Synthesis of Anticonvulsive Agents as Potential Dual Acting Prodrugs and Their Anticonvulsive Activities

Eun-kyung Kim, Byong Ki Choi, Jong Geol Kim, Jeong Hee Lee\*, Jong Won Choi\* and Eung-Seok Lee#

College of Pharmacy, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea

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

**Abstract** — This study aimed to synthesize new anticonvulsive agents as potential dual acting prodrugs. For the synthesis of ester or amide prodrug types, *p*-hydroxybenzaldehyde or valproic acid was coupled with clinically usable anticonvulsants or GABA mimetics with use of DCC/DMAP coupling methods. Also their anticonvulsive activities were evaluated.

**Keywords** □ prodrug, anticonvulsant, GABA

경련성 질환인 간질은 환자에 따라 여러 가지 경련성 증상이 복합적으로 나타나는 경우가 많으며 현재 사용되고 있는 항경련제는 다양한 경련 양상을 조절하기가 쉽지 않으므로 모든 증상을 효과적으로 치료하기 위하여 여러 가지 약물을 동시에 복합 투여할 필요가 있다. 그러나 항경련 화합물을 복합하여 하더라도 간질환자의 약 20~40% 정도는 기존의 항경련제로서는 경련 증상이 전혀 조절되지 못하고 있는 실정이다.<sup>1)</sup> 또한 간질은 일생동안 약물을 복용해야 하는 경우도 있으므로 약물의 내성이나 부작용 등이 특히 문제가 되며, 전체 투여 환자의 40~60% 정도가 기존 약물에 내성이 있는 것으로 보고되어 있다.<sup>2,3)</sup>

따라서 이러한 문제점을 극복하고자 기존의 약물보다 좀더 광범위한 경련양상을 제어할 수 있는 약물의 연구가 활발하게 진행되고 있으며, 신경계에 대한 수용체 연구의 진전에 따라 새로운 항경련성 화합물에 대한 연구는 기존 화합물의 구조를 근거로한 기존 항경련제의 분자적 변경 외에 GABA 수용체에 직접적으로 작용하는 물질, GABA의 농도를 높여 줄 수 있는 GABA aminotransferase 저해제나 GABA 유입억제제, NMDA 수용체 길항제 등이 작용 mechanism에 근거하여 다양한 기전을 갖는

항경련제로서의 개발 연구가 진행되고 있으며,<sup>4,5)</sup> 그 결과로 과거의 약물과 전혀 다른 작용기전을 갖는 항경련성 화합물로 GABA aminotransferase(GABA-T) 저해물질인 vigabatrin<sup>6)</sup>이 새로운 항경련성 신약으로 소개되었다. 그러나 새로운 항경련제 역시 경련성 질환인 간질의 모든 증상을 경감시키지는 못하는 것으로 알려져 있다.<sup>7)</sup> 또한 항경련제와 같이 중추신경계에 작용하는 약물은 효능을 나타내기 위하여 뇌혈관관문의 통과가 필수적이나 항경련 활성을 나타내는 대부분의 화합물, 특히 GABA 및 GABA 관련 화합물들은 아미노산 형태의 구조로 이루어져 있으므로 뇌혈관관문의 통과에 어려움이 있어 높은 효능을 기대하기에는 문제가 있다.

본 연구에서는 현재까지 보고된 위와 같은 결과들에 바탕을 두고 임상적으로 사용되고 있는 항경련제 혹은 항경련 활성이 있는 화합물들을 서로 ester 혹은 amide bond 형태로 결합시켜 본래의 물질보다 지용성을 증가시킴으로써 약물의 흡수 및 뇌혈관관문의 통과를 용이하게 하고, 생체 내에 존재하는 대사관련효소(amidase, esterase 등)에 의하여 두 물질로 분해되어 각기 다른 기전으로 항경련 활성을 나타내어 두 가지 활성(dual action) 및 약물의 상승작용(drug synergism)을 나타내도록 설계 및 합성하였다. 일단 생성된 두 화합물은 뇌혈관관문의 통과가 어려우므로 뇌 안에서 일정 시간 농도를 유지할 수 있을 것으로 기대하였다.

\*본 논문에 관한 문의는 저자에게로  
(전화) 053-810-2827 (팩스) 053-810-2654  
(E-mail) eslee@yu.ac.kr

## 실험방법

### 시약 및 기기

본 실험에 사용한 시약은 Aldrich Chemical Co.와 Fluka, Tokyokasei, Junsei 등의 전문 시약 회사 제품을 사용하였다. 무수 상태에서 실험해야 할 경우, 반응 용기는 110°C에서 건조하여 사용하였고, argon gas로 치환된 상태에서 반응하였으며 시약은 syringe를 이용하여 적가하고, 용매는 실험하기 바로 전에 CaH<sub>2</sub>로 증류하여 사용하였다. 합성된 화합물의 정제는 재결정 및 silica gel(Kieselgel 60, 70~230 mesh, Merk)을 고정상으로 하여 column chromatography를 하였다. Thin layer chromatography(TLC)는 Merck사의 Kieselgel 60 F<sub>254</sub>를 이용하였고, spot의 발색은 자외선, anisaldehyde 발색시약, I<sub>2</sub>, ninhydrin 발색시약 및 1% KI starch용액으로 하였다. NMR(nuclear magnetic resonance) spectra는 tetramethylsilane을 내부 표준 물질로 하여 별도의 언급이 없는 경우에는 CDCl<sub>3</sub>를 용매로 Bruker ARX 300(300 MHz, FT) 혹은 Bruker ARX 250(250 MHz, FT)으로 측정하였다. 용점은 electrothermal 1A 9100 digital melting point apparatus로 측정하였으며, 이에 대한 보정은 하지 않았다.

### 합성방법

1) *p*-Formylphenyl 1-carbobenzoxy-3-piperidinecarboxylate (3a)

1-Carbobenzoxy-3-piperidinecarboxylic acid(2a)의 합성

2 N NaOH(8.52 ml, 17.04 mmole) 수용액에 nipecotic acid(a) (1 g, 7.74 mmole)를 녹이고 benzyl chloroformate(1.2 ml, 8.52 mmole)를 0°C에서 적가한 후, 상온에서 16시간 동안 교반하였다. 0°C에서 반응액을 EtOAc(30 ml)로 세척하고 물층에 1 M HCl을 가하여 pH 2 정도까지 산성화한 후, EtOAc(150 ml)로 추출하여 증류수(120 ml), 1 M HCl 수용액(120 ml×2), 포화식염수(100 ml)로 세척하였다. 무수 MgSO<sub>4</sub>로 건조하고, 여과, 감압 농축하여 흰색 고체(1.94 g, 95%)를 얻었고 TLC 및 NMR 분석결과 순수 화합물로 확인되어 더 이상의 정제 과정은 실시하지 않았다.

mp 94.6~95.8°C; TLC(EtOAc/*n*-hexane/acetic acid=100:100:1, v:v:v) R<sub>f</sub>=0.3; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.35 (m, 5H, phenyl H), 5.14 (s, 2H, benzylic CH<sub>2</sub>), 4.14 (m(br), 1H, piperidine H), 3.94 (m, 1H, piperidine H), 3.11 (m(br), 1H, piperidine H), 2.95 (m, 1H, piperidine H), 2.54 (m(br), 1H, piperidine H), 2.05 (m, 1H, piperidine H), 1.72 (m, 1H, piperidine H), 1.55 (m(br), 1H, piperidine H).

*p*-Formylphenyl 1-carbobenzoxy-3-piperidinecarboxylate(3a)의 합성

무수 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(100 ml)에 화합물(2a)(3.8 g, 14.43 mmole)를 녹

이고 4-hydroxybenzaldehyde(1.76 g, 14.43 mmole)와 DMAP (4-dimethylaminopyridine)(1.76 g, 14.43 mmole)을 상온에서 가하여 교반한 후, 0°C에서 DCC(1,3-dicyclohexylcarbodiimide) (3.28 g, 15.87 mmole)를 혼합액에 약 5분 동안 가하고 0°C에서 5분 더 교반 후 상온에서 2~3시간 교반하였다. 흰색 침전물(DCU)을 여과한 후 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(30 ml)로 세척하였다. 여액을 감압 농축한 후 잔사를 EtOAc(250 ml)로 희석하여 1 M HCl 수용액(120 ml×2), 5% NaHCO<sub>3</sub> 수용액(120 ml×2), 포화식염수(100 ml)로 세척한 후 무수 MgSO<sub>4</sub>로 건조, 여과, 감압 농축하였다. 과량의 DCC와 완전히 제거되지 않은 DCU는 TLC에서 chloride에 노출시킨 후 1% KI starch sol'n으로 발색시켜 위치를 확인하였다. 잔사를 column chromatography(EtOAc/*n*-hexane=1:3, v:v)로 정제하여 투명 오일(4.8 g, 90.5%)을 얻었다.

TLC (EtOAc/*n*-hexane=1:1, v:v) R<sub>f</sub>=0.4; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 10.00 (s, 1H, CHO), 7.90 (d, 2H, *J*=6.76 Hz, benzene H), 7.37~7.22 (m, 7H, phenyl H, benzene H), 5.15 (s, 2H, benzylic CH<sub>2</sub>), 4.22 (m(br), 1H, piperidine H), 3.92 (m(br), 1H, piperidine H), 3.43 (m(br), 1H, piperidine H), 3.10 (m, 1H, piperidine H), 2.79 (m(br), 1H, piperidine H), 2.18 (m, 1H, piperidine H), 1.87 (m, 2H, piperidine H), 1.23 (m, 1H, piperidine H); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 190.99 (CHO), 174.36, 155.10, 136.46, 133.96, 132.16, 131.26, 128.41, 127.80, 122.16, 115.87, 67.17, 45.52, 41.10, 26.84, 44.16, 23.75.

2) *p*-Formylphenyl 1-carbobenzoxy-4-piperidinecarboxylate (3b)

1-Carbobenzoxy-4-piperidinecarboxylic acid(2b)의 합성

Isonipecotic acid(b)(1 g, 7.74 mmole)와 benzyl chloroformate (1.2 ml, 8.52 mmole)를 화합물(2a)와 동일한 방법으로 합성하여 무색 고체(1.8 g, 88%)를 얻었다.

mp 66.8~70.7°C; TLC (EtOAc/*n*-hexane/acetic acid=100:100:1, v:v:v) R<sub>f</sub>=0.3; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.34 (m, 5H, phenyl H), 5.13 (s, 2H, benzylic CH<sub>2</sub>), 4.11 (m(br), 2H, piperidine H), 2.95 (t(br), 2H, *J*=11.84 Hz, piperidine H), 2.52 (m, 1H, piperidine H), 1.93 (m, 2H, piperidine H), 1.67 (m, 2H, piperidine H).

*p*-Formylphenyl 1-carbobenzoxy-4-piperidinecarboxylate(3b)의 합성

화합물(2b)(3.80 mg, 14.43 mmole)와 4-hydroxybenzaldehyde (1.76 g, 14.43 mmole)를 화합물(3a)와 동일한 방법으로 합성하고 column chromatography(EtOAc/*n*-hexane=1:3, v:v)로 정제하여 투명 오일(4.5 g, 85%)을 얻었다.

TLC (EtOAc/*n*-hexane=1:1, v:v) R<sub>f</sub>=0.4; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9.99 (s, 1H, CHO), 7.92 (d, 2H, *J*=8.69 Hz,

benzene H), 7.35 (m, 5H, phenyl H), 7.25 (d, 2H,  $J=8.56$  Hz, benzene H), 5.15 (s, 2H, benzylic  $\text{CH}_2$ ), 4.17 (m, 2H, piperidine H), 3.02 (m, 2H, piperidine H), 2.77 (m, 1H, piperidine H), 2.05 (m, 2H, piperidine H), 1.80 (m, 2H, piperidine H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  190.74 (CHO), 172.06, 155.12, 136.52, 133.96, 132.18, 132.10, 128.41, 127.80, 122.11, 115.87, 67.15, 43.01, 40.09, 27.66, 14.07.

### 3) *p*-Formylphenyl 4-(carbobenzoxyamino)butyrate(**3c**)

#### 4-(Carbobenzoxyamino)butyric acid(**2c**)의 합성

4-Aminobutyric acid(GABA)(**c**)(1 g, 9.70 mmole)와 benzyl chloroformate (1.5 ml, 10.67 mmole)를 화합물(**2a**)와 동일한 방법으로 합성하여 무색 고체(1.86 g, 80.8%)를 얻었다.

mp 62.8~64.2°C; TLC (EtOAc/*n*-hexane/acetic acid=100:100:1, v:v:v)  $R_f=0.32$ ;  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.34 (m, 5H, phenyl H), 5.10 (s, 2H, benzylic  $\text{CH}_2$ ), 4.9 (s(br), 1H, -NH-), 3.27 (q, 2H,  $J=6.56$  Hz, -NH- $\text{CH}_2$ ), 2.41 (t, 2H,  $J=7.1$ , - $\text{CH}_2$ -COOH), 1.85 (quin, 2H,  $J=7.0$  Hz, - $\text{CH}_2$ - $\text{CH}_2$ - $\text{CH}_2$ -).

#### *p*-Formylphenyl 4-(carbobenzoxyamino)butyrate(**3c**)의 합성

화합물(**2c**)(1.86 g, 7.84 mmole)와 4-hydroxybenzaldehyde (1.15 g, 9.41 mmole)를 화합물(**3a**)와 동일한 방법으로 합성하고 column chromatography(EtOAc/*n*-hexane=1:3, gradient elution, v:v)로 정제하여 흰색 고체(2.27 g, 84.8%)를 얻었다.

mp 48.6~49.7°C; TLC (EtOAc/*n*-hexane=1:3, v:v),  $R_f=0.12$ , (EtOAc/*n*-hexane=1:1, v:v)  $R_f=0.35$ ;  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.99 (s, 1H, -CHO), 7.91 (d, 2H,  $J=9.0$  Hz, benzene H), 7.37~7.26 (m, 7H, phenyl H, benzene H), 5.11 (s, 2H, benzylic  $\text{CH}_2$ ), 4.85 (s(br), 1H, -NH-), 3.35 (q, 2H,  $J=6.64$  Hz, -NH- $\text{CH}_2$ ), 2.66 (t, 2H,  $J=6.99$  Hz, - $\text{CH}_2$ -COOH), 1.98 (quin, 2H,  $J=6.99$  Hz, - $\text{CH}_2$ - $\text{CH}_2$ - $\text{CH}_2$ -).

### 4) *p*-Formylphenyl 2-propylpentanoate(**2d**)

#### *p*-Formylphenyl 2-propylpentanoate(**2d**)의 합성

2-Propylpentanoic acid(valproic acid) (**d**)(0.5 ml, 3.19 mmole)와 4-hydroxybenzaldehyde(390 mg, 3.19 mmole)을 화합물(**3a**)와 동일한 방법으로 합성하고 column chromatography(EtOAc/*n*-hexane=1:20, v:v)로 정제하여 투명 오일상(690 mg, 87.1%)을 얻었다.

TLC (EtOAc/*n*-hexane=1:20, v:v)  $R_f=0.2$ ;  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10.00 (s, 1H, CHO), 7.92 (d, 2H,  $J=8.68$  Hz, benzene H), 7.25 (d, 2H,  $J=8.58$  Hz, benzene H), 2.63 (m, 1H,  $J=5.19$  Hz,  $\text{CH}_2$ -COO-), 1.76 (m, 8H, aliphatic H), 0.97 (t, 6H,  $J=7.23$  Hz, - $\text{CH}_2$ - $\text{CH}_3 \times 2$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  190.99 (CHO), 174.36, 155.57, 133.86, 131.19, 122.42, 45.40, 34.54, 20.69, 14.00.

### 5) Methyl 1-(2-propylpentanoyl)-3-piperidinecarboxylate(**8a**)

#### Methyl 1-carbobenzoxy-3-piperidinecarboxylate(**6a**)의 합성

DMF(25 ml)에 화합물(**2a**)(2.5 g, 9.50 mmole)와 sodium hydrogen carbonate(2.39 g, 28.49 mmole)를 가하여 현탁상으로 한 후 DMF(20 ml)에 녹인 methyl iodide(3.55 ml, 56.97 mmole)를 주사기를 통하여 가하고 24시간 동안 상온에서 교반하였다. 증류수(약 150 ml)를 가하여 반응을 멈춘 후 반응액을 EtOAc(70 ml $\times$ 3)로 희석하고 유기층을 증류수(70 ml $\times$ 3)와 포화 식염수(30 ml)로 세척하였다. 무수  $\text{MgSO}_4$ 로 건조하고, 여과, 감압 농축하여 얻은 잔사를 column chromatography(EtOAc/*n*-hexane=1:5, v:v)로 정제하여 무색 투명 오일(2.52 g, 95.8%)을 얻었다.

TLC (EtOAc/*n*-hexane=1:3, v:v)  $R_f=0.29$ ; (EtOAc/*n*-hexane=1:5, v:v)  $R_f=0.14$ ;  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.34 (m, 5H, phenyl H), 5.13 (d, 2H, benzylic  $\text{CH}_2$ ), 4.11 (m(br), 1H, piperidine H), 3.97 (m, 1H, piperidine H), 3.66 (s, 3H, - $\text{OCH}_3$ ), 2.95 (m(br), 1H, piperidine H), 2.86 (m, 1H, piperidine H), 2.47 (m, 1H, piperidine H), 2.06 (m, 1H, piperidine H), 1.7~1.62 (m, 2H, piperidine H), 1.25 (m(br), 1H, piperidine H).

#### Methyl 3-piperidinecarboxylate(**7a**)의 합성

무수 ethanol(80 ml)에 화합물(**6a**)(2.52 g, 9.09 mmole)를 녹이고 10% Pd/C(0.3 g)를 가한 후 수소 풍선을 이용하여 약 3시간 동안 hydrogenolysis하였다. 반응액을 celite를 이용하여 여과한 후 여액을 감압 농축하여 불투명한 오일상 화합물(12.0 g, 92.3%)을 얻었다. 생성물은 UV로 확인되지 않으므로 TLC에서 ninhydrin spray sol'n으로 발색시켜 위치를 확인하였고 더 이상의 정제는 하지 않았다.

TLC ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_3=9:1$ , v:v)  $R_f=0.71$ ; (EtOAc/*n*-hexane/ $\text{NH}_3=2:1$ , v:v)  $R_f=0.28$ ;  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, methanol- $d_3$ )  $\delta$  3.66 (s, 3H, - $\text{OCH}_3$ ), 3.08 (m, 1H, piperidine H), 2.89 (m, 1H, piperidine H), 2.70 (m, 1H, piperidine H), 2.57~2.49 (m, 2H, piperidine H), 2.02~1.95 (m, 1H, piperidine H), 1.64 (m, 1H, piperidine H), 1.66~1.49 (m, 2H, piperidine H).

#### Methyl 1-(2-propylpentanoyl)-3-piperidinecarboxylate(**8a**)의 합성

2-Propylpentanoic acid(valproic acid)(**d**)(2 ml, 4.04 mmole)를  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (20 ml)에 녹이고 중간체(**7a**)(578 mg, 4.04 mmole)를 상온에서 가하여 교반한 후, 0°C에서 DCC(1,3-dicyclohexylcarbodiimide)(916 mg, 4.44 mmole)를 혼합액에 약 5분 동안 가하고 0°C에서 약 5분 동안 더 교반 후 상온에서 16시간 동안 교반하였다. 흰색 침전물(DCU)이 많이 생성되었으므로 반응액을 여과하여 생성된 DCU를 제거하고  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (5 ml)로 세척하였다. 여액을 감

압 농축하여 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>를 제거하고 잔사를 EtOAc(150 ml)로 희석하여 1 M HCl 수용액(50 ml×3), 5% NaHCO<sub>3</sub> 수용액(50 ml×3), 포화식염수(30 ml)로 세척한 후 무수 MgSO<sub>4</sub>로 건조, 여과, 감압 농축하였다. 완전히 제거되지 않은 DCU와 생성물은 UV로 확인되지 않으므로 TLC 분석에서 ninhydrin spray reagent와 I<sub>2</sub>로 발색시켜 위치를 확인하였다. 잔사를 column chromatography (EtOAc/*n*-hexane=1:10, gradient elution, v:v)로 정제하여 무색 투명 오일(448 mg, 41.2%)을 얻었다.

TLC (EtOAc/*n*-hexane=1:5, v:v) R<sub>f</sub>=0.18; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 4.27 (dd, 1H, *J*=3.56 Hz, *J*-12.35 Hz, piperidine H), 3.99 (m, 2H, piperidine H), 3.81 (m, 1H, piperidine H), 3.61 (d, 6H, *J*=7.45 Hz, -OCH<sub>3</sub>), 3.14 (m, 1H, piperidine H), 2.91 (m, 2H, piperidine H), 2.74 (m, 2H, *J*=3.56 Hz, piperidine H), 2.36 (m, 2H, piperidine H), 1.93 (m, 2H, aliphatic H), 1.65 (m, 4H, piperidine H), 1.46 (m, 5H, piperidine H, aliphatic H), 1.31~1.12 (m, 14H, aliphatic H), 0.83 (m, 12H, aliphatic H); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 173.75, 173.67, 173.37, 173.25, 51.93, 51.80, 47.05, 45.61, 43.46, 41.75, 41.68, 41.00, 35.31, 35.13, 35.05, 27.10, 26.85, 25.09, 24.12, 20.48, 20.37, 20.19, 14.46, 14.39.

6) Methyl 1-(2-propylpentanoyl)-4-piperidinecarboxylate(**8b**)  
Methyl 1-carbobenzoxy-4-piperidinecarboxylate(**6b**)의 합성  
화합물(**2b**)(2 g, 7.60 mmole)와 methyl iodide(2.84 ml, 45.58 mmole)를 화합물(**6a**)와 동일한 방법으로 합성하고 column chromatography(EtOAc/*n*-hexane=1:5, v:v)로 정제하여 무색 투명 오일(1.77 g, 84.2%)을 얻었다.

TLC (EtOAc/*n*-hexane=1:5, v:v) R<sub>f</sub>=0.2; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.32 (m, 5H, phenyl H), 5.12 (s, 2H, benzylic CH<sub>2</sub>), 4.11 (m(br), 2H, piperidine H), 3.68 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 2.93 (m, 2H, piperidine H), 2.46 (m, 1H, piperidine H), 1.89 (m(br), 2H, piperidine H), 1.67 (m, 2H, piperidine H).

Methyl 4-piperidinecarboxylate(**7b**)의 합성  
화합물(**6b**)(1.77 g, 6.38 mmole)를 화합물(**6a**)와 같은 방법으로 hydrogenolysis하여 불투명한 오일상 화합물(884 mg, 96.8%)을 얻었다. 생성물은 UV로 확인되지 않으므로 TLC 분석에서 ninhydrin spray reagent로 발색시켜 위치를 확인하였고 더 이상의 정제 과정은 거치지 않았다.

TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>3</sub>=9:1, v:v) R<sub>f</sub>=0.62; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, methanol-*d*<sub>3</sub>) δ 3.66 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 3.00 (dt, 2H, *J*=3.73 Hz, *J*=12.9 Hz, piperidine H), 2.59 (m, 2H, *J*=2.8 Hz, *J*=11.72 Hz, piperidine H), 2.48 (m, 1H, *J*=3.9 Hz, *J*=11.25 Hz, piperidine H), 1.86 (m, 2H, piperidine H), 1.58 (m, 2H, *J*=3.9 Hz, *J*=11.4 Hz, piperidine H).

Methyl 1-(2-propylpentanoyl)-4-piperidinecarboxylate(**8b**)의 합성

2-Propylpentanoic acid(valproic acid)(**d**)(1 ml, 2.02 mmole)와 중간체(**7b**)(289 mg, 2.02 mmole)를 화합물(**8a**)와 동일한 방법으로 합성하고 column chromatography(EtOAc/*n*-hexane=1:10, gradient elution, v:v)로 정제하여 무색 투명 오일(234 mg, 43%)을 얻었다.

TLC (EtOAc/*n*-hexane=1:5, v:v) R<sub>f</sub>=0.15; <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.48 (m, 1H, piperidine H), 3.96 (m, 1H, piperidine H), 3.69 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 3.12 (m, 1H, piperidine H), 2.80 (m, 1H, piperidine H), 2.74~2.50 (m, 2H, piperidine H), 1.93 (m, 2H, piperidine H), 1.61 (m, 4H, piperidine H, -CO-CH(CH<sub>2</sub>)-CH<sub>2</sub>-), 1.40~1.17 (m, 6H, aliphatic H), 0.86 (t, 6H, *J*=7.02 Hz, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>×2H); <sup>13</sup>C NMR (62.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 174.59, 174.52, 51.74, 44.80, 40.91, 40.27, 35.23, 28.70, 28.09, 20.72, 14.12, 14.12.

#### 항경련활성 측정

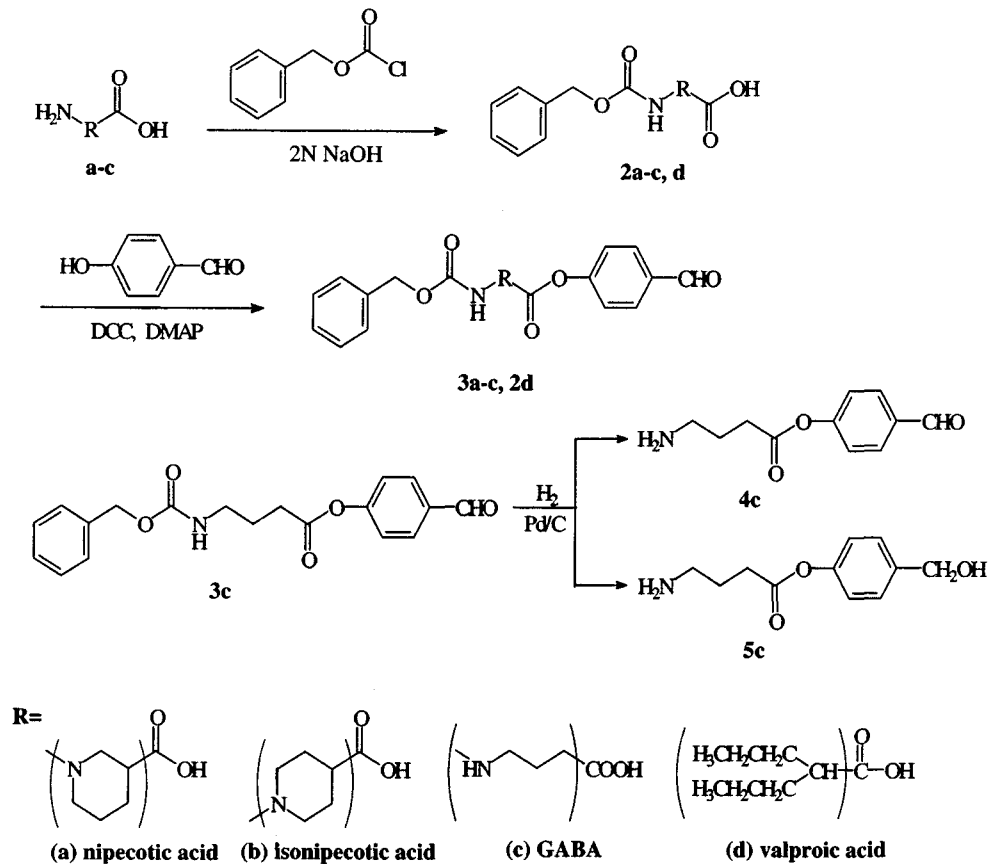
실험 동물은 maximal electric shock이나 pentylenetetrazole로 경련이 유발된 ICR계의 마우스 4마리를 1군으로 하였다.<sup>8)</sup> 각 화합물은 polyethylene glycol 400에 녹여 25 mg/kg, 50 mg/kg, 75 mg/kg, 100 mg/kg의 용량으로 복강주사하고 30분 후에 경련을 유발하여 실험하였다. MES test(maximal electric shock test)는 전기 충격(100 v, 60 cycle, 50 mA, 0.2 sec)에 의해 유도된 경련이 억제되는 정도를 사지의 강직성 신장의 유무로 판단하고 용량-반응 데이터로부터 ED<sub>50</sub>을 측정하였다. PTZ test(Sc. pentylenetetrazole induced seizure test)는 85 mg/kg의 pentylenetetrazole을 0.5%의 용액으로 피하주사하고 30분 동안 threshold seizure(a single episode of clonic spasms of at least 5 sec)를 관찰하여 용량-반응 데이터로부터 ED<sub>50</sub>을 측정하였다.

#### 실험결과 및 고찰

##### 합성

4-Hydroxybenzaldehyde와 다른 항경련성 화합물(**a**, **b**, **c**, **d**)를 ester 결합의 일반적인 합성법인 DCC와 DMAP을 이용하여 ester bond로 연결하는 반응을 Scheme 1에 나타내었다.

합성한 중간체(**2a**~**2c**, **d**)의 치환하고자 하는 acid (R-CO<sub>2</sub>H)를 DMAP(4-dimethylaminopyridine)과 DCC 존재하에 에스테르화 반응<sup>9)</sup>을 하여 화합물(**3a**~**3c**, **2d**)를 84.8~90.7%의 수율로 합성하였다. TLC 분석에서 화합물의 확인시 과량의 DCC와 반응 과정 중 생성되는 DCU(*N,N*-dicyclohexylurea)는 chloride에 노출시킨 후 1% KI starch 용액으로 발색하여 위치를 확인하였다.



Scheme 1

보호기인 benzoyloxycarbonyl(Cbz)기를 deprotection하기 위하여 화합물(3c)를 Pd/C를 촉매로 하여 H<sub>2</sub>의 존재하에서 hydrogenolysis로 deprotection한 후 화합물(4c)을 얻고자 하였으나 반응 결과 얻어진 화합물은 NMR을 통한 분석 결과 소량의 목적 화합물(4c) 외에 aldehyde가 alcohol로 환원된 화합물(5c)가 major 화합물로 합성된 것으로 확인 되었다. 이것은 인접해서 존재하는 aromatic ring에 의하여 aldehyde의 carbonyl기가 conjugated carbonyl기로 되어 반응성이 증가하여 보호기인 benzoyloxycarbonyl(Cbz)기를 deprotection하기 위하여 hydrogenolysis로 하는 동안에 aldehyde가 alcohol로 환원된 것으로 사료된다. 보호기인 benzoyloxycarbonyl(Cbz)기는 체내에서 esterase 등의 효소에 의해 가수분해되어 free amine을 유리할 수 있으므로 합성된 다른 화합물(3a, 3b, 3d)은 탈보호하지 않고 그 화합물 자체의 약효 검색을 실시하였다.

최종 목적 화합물로서 deprotection 단계를 거치지 않은 화합물 4종(3a~3c, 3d)과 화합물(3c)의 탈보호 과정에서 주 화합물로 생성된 alcohol 화합물(5c)을 약효 검색하였고 그 결과는 Table I에 나타내었다.

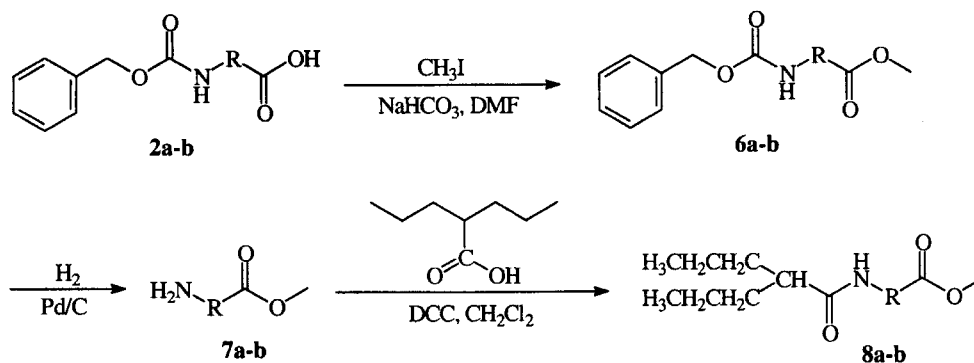
임상에서 항경련제로 널리 사용되고 있는 valproic acid에 항경련 활성이 있는 화합물 nipecotic acid(a), isonipecotic acid(b)

의 methyl ester형을 amide로 연결한 최종 목적 화합물(8a, 8b)는 DCC를 이용하여 coupling하는 방법으로 합성하였다.<sup>10)</sup>

Scheme 2는 valproic acid와 amide bond로 연결하기 위한 항경련성 화합물 nipecotic acid(a), isonipecotic acid(b), GABA(c), vigabatrin(d)의 지용성을 증가시킨 중간체(6a~6d)를 합성하는 반응 개요이다.

Scheme 1의 방법으로 합성된 benzoyloxycarbonyl(Cbz)기로 보호한 화합물(2a~2b)에 과량의 sodium hydrogen carbonate를 염기로 이용하고 3당량의 methyl iodide와 반응하여 carboxyl기를 methyl ester로 만든 화합물(6a, 6b)를 84%~96%의 수율로 합성하였고, benzoyloxycarbonyl(Cbz) 보호기를 Pd/C를 촉매로 하여 H<sub>2</sub>의 존재하에서 hydrogenolysis로 탈보호하여 더 이상의 정제 과정 없이 지용성을 증가시킨 중간체(7a, 7b)를 79%~97%의 수율로 합성할 수 있었다.

합성한 중간체(7a)와 valproic acid(d)를 amide bond로 연결하기 위하여 IBCF(isobutyl chloroformate)를 가하여 생성되는 mixed anhydride법(Hofmann 1965)을 이용하여 반응하였으나 부반응으로 valproic acid 대신에 isobuty기가 (7a)와 결합된 물질이 합성되었고 목적 화합물은 합성되지 않았다. DCC를 이용하여 비교적 간단한 방법으로 amide가 합성되었으므로 이후로는



Scheme 2

Scheme 2의 방법으로 화합물(8a, 8b)를 합성하였다.

Scheme 2에서 이용한 방법은 valproic acid(d)에 염기를 이용하지 않고 1.1당량의 DCC(1,3-dicyclohexylcarbodiimide)를 가하고 합성된 중간체(7a, 7b)와 반응하여 최종 목적 화합물(8a, 8b)를 29%~48%의 수득율로 합성하였다. 상기 반응에서 미지의 부산물과 반응하지 않은 출발 물질이 검출되어 전반적으로 높은 수득율을 얻지 못하였다. TLC 분석 과정에서 화합물의 확인시 출발 물질과 생성물, 과량의 DCC, 그리고 반응 과정 중 생성되는 DCU(N,N-dicyclohexylurea)는 UV에서 확인되지 않으므로 I<sub>2</sub>에 발색하여 목적 화합물(8a, 8b)의 합성을 확인하였고 또한 chloride에 노출시킨 후 1% KI starch용액으로 발색하여 위치를 확인하였다.

**생물학적 활성**

합성된 최종 후보 물질 6종의 화합물들에 대하여 생물학적 활성을 검색하였으며, 그에 대한 결과는 Table I에 나타내었다. 합성된 화합물의 항경련 작용은 임상적으로 사용되고 있는 항경련제와 상대적인 효능의 차이로 비교하였다.

합성된 화합물은 *in vivo* 실험으로 활성을 검색하였으며 1차적으로 ICR계의 마우스 4마리를 1군으로 하여 100 mg/kg의 용량으로 투여한 후 최대 전기 자극이나 pentylenetetrazole 및 strychnine, picrotoxin으로 유발되는 경련을 유효성 있게 억제하는 화합물에 대해서 2차 실험을 실시하였다. 2차 실험에서는 MES test와 PTZ test를 실시하여 용량-반응 곡선으로부터 ED<sub>50</sub>를 측정하였다.

Valproic acid와 4-hydroxybenzaldehyde를 ester로 연결한 화합물(2d)는 PTZ test에서는 ED<sub>50</sub>가 140.62 mg/kg으로 valproic acid와 유사한 활성을 나타내었다.

**결 론**

이상의 합성된 화합물의 항경련 활성은 임상적으로 사용하고 있는 기존의 항경련제에 비하여 활성은 상대적으로 높지 않았으나 지용성 증가와 두 가지 활성(dual action) 및 약물의 상승작용(drug synergism)면에서 약효의 증가가 기대되고 앞으로 새로운 화합물에 대한 설계 및 합성에 대한 자료로서의 제공과 가능성이 크다고 사료된다.

**감사의 말씀**

이 논문은 2001년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음(KRF-2001-041-F00298).

**참고문헌**

- 1) McNamara, J. O. : Cellular and molecular basis of epilepsy. *J. Neurosci.* **14**, 3413 (1994).
- 2) Dichter, M. A. and Ayala, G. F. : Cellular mechanisms of epilepsy: a status report. *Science* **237**, 157 (1987).
- 3) Raines, A., Niner, J. M. and Pace, D. G. : A comparison of the anticonvulsant, neurotoxic and lethal effects of diphenyl-

Table I – Biological activities of prepared compounds

No	MES test ED <sub>50</sub> (mg/kg)	PTZ test ED <sub>50</sub> (mg/kg)	Compound	MES test ED <sub>50</sub> (mg/kg)	PTZ test ED <sub>50</sub> (mg/kg)
3a	>500	>500	Diphenylhydantoin	9.5	>500
3b	>500	>500	Phenobarbital	21.8	13.1
5c	>500	>500	Ethoximide	>500	130.4
3d	>500	140.62	Methoximide	42.6	34.5
8a	>500	>500	Valproic acid	272.7	148.6
8b	>500	>500	Trimethadione	704.2	250.5

- barbituric acid, phenobarbital, diphenyl-hydantoin in the mouse. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **186**, 315 (1973).
- 4) Krosggaard-Larsen, P. :  $\gamma$ -Aminobutyric acid agonist, antagonist and uptake inhibitors. Design and therapeutic aspects. *J. Med. Chem.* **24**, 1377 (1981).
  - 5) Ali, F. E., Bondinell, W. E., Dandridge, P. A., Frazee, J. S., Garvey, E., Girard, G. R., Kaiser, C., Ku, T. W., Lafferty, J. J., George I. G. I., Oh, H.-J., Rush, J. A., Setler, P. E., Stringer, O. D., Venslavsky, J. W., Volpe, B. W., Yunger, L. M. and Zirkle, C. L. : Orally active and potent inhibitors of  $\gamma$ -aminobutyric acid uptake. *J. Med. Chem.* **28**, 653 (1985).
  - 6) Jung, M. J., Lippert, B., Metcalf, B. W., Bohlen, P. and Schechter, P. J. :  $\gamma$ -Vinyl GABA (4-amino-hex-5-enoic acid), a new selective irreversible inhibitor of GABA-T: Effect on brain GABA metabolism in mice. *J. Neurochem.* **29**, 797 (1977).
  - 7) Canney, D. J., Holland, K. D., Levine, J. A., McKeon, A. C., Ferrendelli, J. A. and Covey, D. E. : Synthesis and structure-activity studies of alkyl-substituted  $\gamma$ -butyrolactones and  $\gamma$ -thio-butyrolactones: Ligands for the picrotoxin receptor. *J. Med. Chem.* **34**, 1460 (1991).
  - 8) Krall, R. L., Penry, J. K., White, B. G., Kupferberg, H. J. and Swinyard, E. A. : Antiepileptic drug development: II. Anticonvulsant drug screening, *Epilepsia* **19**, 409 (1978).
  - 9) Neises, B. and Steglich, W. : Esterification of carboxylic acids with dicyclohexyl-carbodiimide/4-dimethylaminopyridine: *tert*-Butyl ethyl fumarate. *Organic Synthesis* **7**, 357 (1991).
  - 10) Carey, F. A. and Sundberg, R. J. : Advanced organic chemistry. Part B: Reactions and synthesis, third edition. *Plenum Press* 152 (1993).