

Piperine誘導體의 合成 및 中樞抑制作用에 관한 研究(II)

Piperic Acid Amide 誘導體

殷載淳·林中基·金完柱*·禹源植**·李殷芳**

咸均館大學校 藥學大學·*韓國科學技術研究所·**서울大學校 生藥研究所

(Received September 29, 1983)

Jae Soon Eun, Joong Ki Rim, Wan Joo Kim*,

Won Sick Woo** and Eun Bang Lee**

*College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University, Suwon 170, *Organic Syntheses Laboratory
III, Advanced Institute of Science and Technology, Seoul 132, and **Natural Products
Research Institute, Seoul National University, Seoul 110, Korea*

Syntheses and Central Nervous Depressant Activities of Piperine Derivatives (II) Piperic Acid Amides

Abstract—In order to search more active and less toxic central nervous depressants, piperic acid amides were synthesized by condensation of piperonal with crotonic acid amides. The bioassay results revealed that, among the compounds synthesized, the piperonic acid methylamide and ethylamide exhibited potent protective activity against strychnine-induced convulsion.

中樞神經系에 대하여 억제적으로 작용하는 神經安靜劑, 睡眠劑 및 抗痙攣劑 등은, 수 많은 종류가 개발되어 왔으나, 藥物에 따라 消化器障礙, 習慣性, 우울증, 運動障礙 등 많은 부작용을 가지고 있기 때문에, 作用이 강력하고 副作用이 적은 새로운 중추신경억제제의 개발이 시도되고 있다. 최근에禹 등¹⁾은 piperine이 강력한 중추신경억제작용이 있음을 보고하였고, 林²⁾ 등은 3,4-methylenedioxy cinnamide 誘導體를 합성하여 中樞神經抑制作用을 piperine과 비교한바 있다. 그 결과를 검토한 바 piperine의 藥理作用에 가장 주된 작용을 하는 group은 2,4-pentadienyl 기와 acid amide가 필수적인 것이라 추정 되어진다. 著者들은 이러한 piperine의 藥理活性基를 확실히 규명하여 보고, 또한 그 誘導體들을 합성하여 piperine보다 毒性이 적고 中樞神經抑制作用이 더 강력한 物質의 合成을 시도하여 既存 合成法보다 수득량이 양호하고, 操作이 간단한 새로운 합성법을 개발 하였다. 합성된 6種의 piperic amide 誘導體들에 대한 약효평가를 위한 기초실험으로서 急性毒性實驗, 抗痙攣作用實驗, rotarod實驗 및 睡眠時間延長實驗 등 일반적인 중추신경억제작용에 관한 실험을 실시한 바, piperine보다 毒性이 적고 抗 strychnine痙攣作用이 강력한 誘導體를 발견하였기에 그 결과를 보고하고자 한다.

實驗 方 法

3-(3,4-Methylenedioxyphenol)-2-propene-1-al의 合成—Ladenburg 등³⁾의 方法에 의하여, 증류수 900ml에 10g의 piperonal을 가하여 용해시킨 후, 10% NaOH 溶液 10ml를 가하고, 새로

증류한 acetaldehyde 15ml를 교반하면서 소량씩 가하였다. 35~40° 수욕상에서 48시간 동안 계속 하여 교반시킨 후, 냉각시켜 과량의 ether로 수회 추출하여 무수 CaCl₂로 24시간동안 건조하고 여과하여 여액을 감압증류하여 18mmHg에서 180°~190°의 黄色 油狀物質을 얻었다. 收得率は 9%

Piperic Acid의 合成—a) 上記³⁾ 實驗에서 합성한 3-(3,4-methylenedioxyphenyl)-2-propene-1-al 10g을 sodium acetate 8g 및 acetic acid anhydrous 40g을 혼합한 溶液에 가하고 140°~145°로 6시간 동안 가열한 다음, 냉각하여 빙수에 소량씩 교반하면서 가한 후, 10% NaOH용액으로 알카리성으로 한 뒤에, 10% HCl 용액으로 중화, 석출한 結晶을 여과하여 염산산성이 없어질때 까지 물로 세척한 후 ethylacetate로 재결정하여 m.p. 215°인 微黄色結晶을 얻었다. 收得率は 62%이었다.

b) Dutt⁴⁾의 方法에 따라 3-(3,4-methylene dioxy phenyl)-2-propene-1-al 17g을 malonic acid 10g 및 pyridine 4.5ml, piperidine 3방울을 혼합한 용액에 가한 후, 수욕상에서 100°로 4시간 동안 가열한 다음, 이 액을 냉각하여 100ml의 빙수에 추가 후, 10% NH₄OH를 가하고 10% HCl로 산성으로 하여 석출한 結晶을 여과하고 HCl 산성이 없어질때 까지 물로 세척한 후, ethylacetate로 재결정하여 m.p. 215°인 微黄色結晶을 얻었다. 收得率は 81%.

c) Piperonal로 부터의 合成: 100ml round flask에 새로 증류한 DMF 40ml를 넣고, sodium amide 1.6g을 현탁시켜 교반하면서, dropping funnel로 crotonic acid ethyl ester 2.4ml을 빙냉하에 소량씩 가한후, piperonal 3g을 가하고, 5분간 진탕한 후, 밀폐하여 24시간 동안 방치하였다. 反應物에 10% KOH 50ml를 가하여 1시간 동안 환류시킨 뒤, 냉각하여 10% HCl로 산성으로 하여 석출한 結晶을 여과하여 물로 세척한 후 ethylacetate로 재결정하여 m.p. 215°인 微黄色結晶을 얻었다. 收得率は 71%이었다.

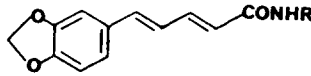
Piperoyl Chloride의 合成—De Cleyn 등의 方法⁵⁾에 의하여 piperic acid 7g을 dry benzene 750 ml와 thionylchloride 110ml을 혼합한 용액에 가한 후, 75°~80° 수욕상에서 7시간 동안 환류시킨 다음, 과잉의 benzene과 thionylchloride를 30° 수욕상에서 감압하에 유지하여 m.p. 102°인 黄色結晶을 얻었다. 收得率は 75%이었다.

Crotonic Acid Amide 誘導體의 合成—각 amine 50mmole을 40ml ether에 가하고, triethylamine 5ml을 가한 후, 빙냉하에 crotonyl chloride 5ml을 교반하면서 소량씩 가하고 30분 동안 실온에서 격렬히 교반시키고, 생성된 沈澱을 여과하여, 이 沈澱을 ether로 2~3회 세척하고 洗滌液을 여액에 합친 뒤, 10% HCl 및 H₂O로 세척하고, ether 층을 분리하여 무수 Na₂SO₄로 건조한 후, ether를 유거하여 목적하는 crotonic acid amide 誘導體를 얻었다. 收得率は 80%~88%였다.

Piperic Acid Amide 誘導體의 合成—a) Piperonal과 crotonic acid amide의 縮合: Sodium amide 0.5g을 10ml dimethylformamide에 현탁시키고 上記 實驗에서 합성한 crotonic acid amide誘導體를 각 7mmole 가한 뒤, piperonal 1g을 빙냉하에 차례로 가하여 교반한 후, 밀폐하고 실온에서 24시간 방치하였다. 反應物을 빙수 50ml에 넣고 10% HCl로 산성으로 해주면 結晶이 석출된다. 合成物의 融點, 收得率, 分析值를 Table I에 표시하였다.

b) Amine의 acylation: 上記 實驗에서 합성한 piperonyl chloride 5g을 금속 Na으로 탈수시킨 dry benzene 20ml에 용해시킨 후, 빙냉하에 각 amine 50mmole을 소량씩 가한 다음, 실온에서 30분간 교반시킨 뒤, benzene을 유거하여 석출한 結晶을 여과하고 10% HCl, 10% NaOH 및 H₂O로 세척한 후, EtOH에서 재결정하여 微黄色結晶인 piperic acid amide誘導體를 얻었다. 收得率は 71%~82%

Table I. Piperic acid amides



Com- pound	R	Mp,	Yield* (%)	Recryst. solvent	Formula	Analysis(%)				IR cm ⁻¹
						Cacl'd		Found		
						C	N	C	N	
I	-H	200	70	EtOH	C ₁₂ H ₁₁ NO ₃	66.35	6.45	66.27	6.48	3340, 1670
II	-CH ₃	189~191	69	EtOH	C ₁₃ H ₁₃ NO ₃	67.52	6.05	67.99	6.07	3300, 1640
III	-C ₂ H ₅	163~164	68	EtOH	C ₁₄ H ₁₅ NO ₃	68.55	5.71	68.47	5.79	3300, 1640
IV	-CH(CH ₃) ₂	174~175	69	EtOH	C ₁₅ H ₁₇ NO ₃	69.48	5.40	69.32	5.29	3250, 1640
V	-C ₆ H ₅	197	65	acetone	C ₁₈ H ₁₅ NO ₃	73.70	4.77	73.58	4.67	3250, 1650
VI	-CH ₂ -C ₆ H ₅	182~183	69	EtOH	C ₁₉ H ₁₇ NO ₃	74.24	4.56	74.35	4.62	3300, 1640

* By condensation of piperonal with crotonic acid amides

藥理作用—본 약리실험에 있어서 급성독성실험, 항pentetrazole 경련작용실험, 항strychnine 경련작용실험, 항전기경련작용실험, rotarod실험 및 수면시간실험등은 前報²⁾와 동일하게 실시하였다.

實驗結果 및 考察

Piperic acid의 合成—Ladenburg 등의 방법³⁾에 따라 piperonal을 원료로 aldol 縮合反應과 Perkin 反應을 이용하여 piperic acid를 합성하였으나, 收得量이 약 7%로 저조하였으며, Perkin 反應을 변형한 Dutt⁴⁾의 방법을 이용하여도 收得量은 약 10%로 저조하였다. 그러나 piperonal을 sodium amide의 존재하에서 crotonic ethyl ester과 축합시키면 양호한 收得量(약 71%)으로 piperic acid를 합성할 수 있었다.

Piperic Acid Amide 誘導體의 合成—Piperic acid amide 유도체를 합성하기 위하여 crotonyl chloride에 목적하는 amine류를 가하여 crotonic acid amide 誘導體를 합성하고 piperonal과 축합시킨 결과 piperic acid amide 유도체들이 양호하게 얻어졌으며 목적하는 amine류에 piperic acid chloride를 반응시켜 합성한 物質들과 혼용시 融點降下가 없었으며 IR spectrum도 같았다.

이 合成法의 反應溶媒로서 DMF, DMA, TEA, THF 등을 사용하여 비교한 결과 DMF에서는 收得量이 65~70%, DMA에서는 약 40%정도이었고, 기타 용매에서는 收得量이 아주 저조하거나 반응이 진행되지 않았다.

藥理作用—이들 6種의 piperic acid amide誘導體의 急性毒性和 中樞神經抑制作用에 관한 실험결과를 Table II에 표시하였다.

이들 化合物의 LD₅₀은 마우스 經口投與時에 2,000mg/kg 이상으로서, 이것은 LD₅₀이 1,636.8 mg/kg인 piperine보다 急性毒性和 약함을 알수 있다. 또한 抗 pentetrazole痙攣作用은 이들 化合物 400mg/kg의 投與의 경우에 piperine 200mg/kg을 投與했을 경우보다도 약하거나 거의 作用을

Table I II—Acute toxicity and central nervous depressant activities of piperic acid amides.

Compound	Acute toxicity		scPT ¹⁾		scSTN ²⁾	
	dose mg/kg p.o.	No. died /No. used	dose mg/kg p.o.	No. conv. /No. used	dose mg/kg p.o.	No. died /No. used
Control				9/10		8/8
piperine	1636.8 ⁷⁾	2/4	200	4/10	73.8 ⁸⁾	4/8
I	2000	1/4	400	10/10	150 75	2/8 4/8
II	2000	1/4	400	6/10	150 75	0/8 1/8
III	2000	1/4	400	9/10	150 75	0/8 1/8
IV	2000	1/4	400	9/10	150 75	2/8 4/8
V	2000	1/4	400	7/10	150	6/8
VI	2000	0/4	400	10/10	150	5/8

Compound	MES ³⁾		RR ⁴⁾		ipHB ⁵⁾	
	dose mg/kg p.o.	No. conv. /No. used	dose mg/kg p.o.	No. drop /No. used	dose mg/kg p.o.	min. ±S.E. ⁶⁾
Control		10/10		0/10		21.7±8.7
piperine	1300	10/10	90	5/10	18.0	39.4±4.3(p<0.01) ⁹⁾
I	1300	10/10	200	0/10	30	23.5±4.5(N.S.) ¹⁰⁾
II	1300	10/10	200	1/10	—	—
III	1300	10/10	200	0/10	30	28.3±3.16(N.S.)
IV	1300	10/10	200	2/10	30	26.7±5.14(N.S.)
V	1300	10/10	200	0/10	30	16.6±2.75(N.S.)
VI	1300	10/10	200	0/10	30	13.2±2.94(N.S.)

1) scPT; Subcutaneous pentetrazole (85mg/kg) seizure threshold test. 2) scSTN; Subcutaneous strychnine (1.5mg/kg) mortality test. 3) MES; Maximal electroshock (50mA, 0.2sec) seizure test. 4) RR; Rotarod test. 5) ipHB; Hexobarbital (50mg/kg, *i.p.*) hypnosis test. 6) Six mice used for each group. 7) LD₅₀ value (See Ref. 1). 8) ED₅₀ value (See Ref. 1). 9) Significant as compared with control group 10) N.S.; Non significant.

나타내지 않았다. 그러나 抗strychnine 作用에 있어서는 piperine의 ED₅₀이 73.8mg/kg인데 比하여 piperic acid monomethylamide (II) 및 piperic acid monoethylamide (III)은 75mg/kg 投與했을 경우에, 보다 강력한 抑制作用을 나타냈으며 piperic acid amine (I) 및 piperic acid isopropylamide (IV)는 piperine과 유사한 作用을 나타냈다. 抗 maximum electroshock 作用은 이들 化合物이나 piperine이나 모두 1,300mg/kg의 用量에서 아무런 抑制作用을 나타내지 못하였으며 rotarod 시험에 있어서는 piperine 90mg/kg의 用量의 경우에 있어서 보다도 化合物 200mg/kg을 사용했을 경우가 더욱 作用이 弱하게 나타나서 이들 化合物은 骨骼筋弛緩作用이 매우 약하거나 거의 없음을 나타내고 있다. 실제로 抗痙攣藥이 骨骼筋弛緩作用이 없음은 바람직한 결과로 생각한

다. Sodium hexobarbital에 의한 睡眠時間에 미치는 作用은 piperine의 경우에 對照群에 比하여 거의 100%의 延長作用을 나타내고 있으나 이들 合成物質은 對照群에 比하여 有意性있는 延長作用을 나타내지 않았다.

結 論

Piperonal에 crotonic acid amide류를 축합시켜 piperic acid amide 誘導體를 용이하게 합성할 수 있었다.

합성한 6種의 piperic acid amide 誘導體들은 piperine에 비해 독성이 현저하게 적었으나, strychnine에 대한 痙攣抑制作用은 강하였다. 특히 alkylamide류가 arylamide류 보다 strychnine에 대한 痙攣抑制作用이 강력하였다.

文 獻

1. W.S. Woo, E.B. Lee and K.H. Shin, Central nervous depressant activity of piperine, *Arch. Pharm. Res.*, **2**, 121 (1979).
2. 林中基·李東雄·李眞榮·金蓮順·禹源植·李股芳, Piperine 유도체의 합성 및 중추억제 작용에 관한 연구 (I). 3,4-Methylene-dioxycinnamic acid 유도체, 本誌, **26**, 189 (1982).
3. A. Ladenburg and M. Scholtz, Synthese der Piperinsaeure und des Piperins. *Chem. Ber.*, **27**, 2958 (1894).
4. S. Dutt, Eine allgemeine Synthese von α -Ungesättigten Saeuren aus Malonsaeure, *Chem. Zentr.*, **II**, 1852 (1925).
5. R. De Cleyn and M. Verzele, Qualitative analysis of piperine isomers, *Chromatographica*, **5**, 346 (1972).