

피페린誘導體의 合成 및 中樞 抑制作用에 관한 研究(IV)

—피페리딘에 置換基를 導入한 피페린誘導體—

沈英基 · 林中基 · 李殷芳* · 禹源植*

成均館大學校 藥學大學 · *서울大學校 生藥研究所

(Received September 26, 1985)

Studies on the Synthesis and Central Nervous Depressant Activities of Piperine Derivatives (IV)

—Piperine Derivatives with Substituents in Piperidine Residue—

Young Ki Shim, Joong Ki Lim, Eun Bang Lee* and Won Sick Woo*

College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University, Suwon 170, and

*Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110, Korea

Abstract—In order to search a more active and safer compound, piperine derivatives with substituents in piperidine residue were synthesized and evaluated on CNS depressant activity. N-Piperoyl-2-methylpiperidine (I) and N-piperoyl-3-methylpiperidine (II) were potent in strychnine-induced convulsion. Compound I and N-piperoyl-3-hydroxypiperidine (IX) exhibited a potent inhibitory effect against pentetrazole-induced convulsion and a significant prolongation effect of hexobarbital-induced sleeping time. The hydroxy derivatives were more toxic than the methyl derivatives.

著者들은 毒性이 약하고 藥理活性이 강력한 中樞神經 抑制藥을 개발하기 위하여 3,4-methylenedioxycinnamic acid 誘導體¹⁾ 및 피페린산 誘導體^{2,3)}를 합성한 바 있다.

이들 化合物中 3,4-methylenedioxycinnamic acid 誘導體와 피페린산의 아미노산誘導體들은 피페린⁴⁾에 비하여 별로 우수한 藥理作用을 갖고 있지 않으나 피페린산의 메틸아미드와 에틸아미드는 스트리키닌痙攣에 대한 강한 拮抗作用을 갖고 있음이 밝혀졌다.²⁾ 本報에서는 피페린의 藥理活性의 主作用團으로 推定되는 3,4-methylenedioxyphenyl基, 2,4-pentadienyl基, 아미드 결합의 基本骨格에는 變化를 주지 않고, 다만 助作用團으로 推定되는 피페리딘 환의 分子構造만을 變化시킨 피페린誘導體를 合成하고 그 化合物들의 中樞神經 抑制活性을 測定한 結果를 報告한다.

實驗 方法

피페린 誘導體의 合成—1) 第一方法: 置換 피페리딘을 약 8배 容量의 dry 벤젠에 용해시켜 CaO로 건조한 1.2배량의 Et₃N을 가하고 piperoyl chloride의 벤젠 溶液을 7~10°C에서 1시간에 걸쳐 注加한 후, 같은 온도에서 1시간 동안 교반한 다음, 서서히 실온으로 올려 24~28時間 反應시켰다. 反應의 終末點을 TLC로 확인하고 생성된 Et₃N·HCl을 濾去한 溶液을 5% HCl, 5% NaOH, 물로 각각 3회 세척하여 有機層을 취했다. 熱時 活性炭으로 處理한 후, 濾液을 減壓 溜去하고 생성된 粗品을 再結晶하여 純粹 生成物을 얻었다.

Table I—The piperine derivatives.



Com- pound	R	MP	Synthetic method	Recryst. solvent	Yield (%)	Formula	Analysis (%)				IR(KBr) ($\nu_{C=O}$) cm^{-1}	UV (nm)	PC**
							Calc.	Found	Calc.	Found			
I	2-Me	101	1	Et ₂ O:PE(1:1)	75.5	C ₁₈ H ₂₁ NO ₃	72.22	72.09	4.68	4.79	1640	337	254
II	3-Me	112	1	Et ₂ O:PE(1:1)	85.7	C ₁₈ H ₂₁ NO ₃	72.22	71.94	4.68	4.46	1627	339	228
III	4-Me	83	1	Et ₂ O:PE(1:1)	81.4	C ₁₈ H ₂₁ NO ₃	72.22	71.76	4.68	4.54	1660	339	230
IV	2,6-diMe	73	2	Et ₂ O	71.4	C ₁₉ H ₂₃ NO ₃	72.82	72.05	4.47	4.49	1660	340	315
V	3,5-diMe	103	2	Et ₂ O	88.2	C ₁₉ H ₂₃ NO ₃	72.82	72.91	4.47	4.41	1640	340	516
VI	4-ph	65	1	Benzene	63.1	C ₂₃ H ₂₃ NO ₃	76.43	76.57	3.88	3.90	1640	328	36833
VII	4-Be	98	2	Et ₂ O	79.0	C ₂₄ H ₂₅ NO ₃	76.78	76.88	3.73	3.77	1650	326	24556
VIII	3-HM	128	1	MeOH	76.5	C ₁₈ H ₂₁ NO ₄	68.55	68.95	4.44	4.50	1627	342	111
K	3-OH	168	3	MeOH	71.7	C ₁₇ H ₁₉ NO ₄	67.76	67.36	4.65	4.61	1620	331	69
X	4-OH	170	3	MeOH	88.0	C ₁₇ H ₁₉ NO ₄	67.76	67.45	4.65	4.62	1640	342	62

* Me; methyl, diMe; Dimethyl, Ph; phenyl, Be; benzyl, HM; hydroxymethyl, PE; petroleum ether.

** Partition coefficient (PC) for piperine was 221 (λ max, 334nm).

2) 第二方法: Et_3N 을 使用하지 않고 置換 피페리딘의 量을 piperoyl chloride에 대한 2倍量을 使用해서 同一條件으로 反應시켰다.

3) 第三方法: hydroxy piperidine 0.025mole에 hexamethyldisiazane (HMDS) 0.1mole을 가하여 현탁시키고 2시간 加熱 還流한 후 trimethylchlorosilane (TMCS) 6滴을 가하여 $126\sim 127^\circ\text{C}$ 에서 7시간 또는 17시간 加熱 還流시켰다. 냉각에 의하여 反應이 완료됐음을 확인하고 과잉의 HMDS를 80°C 에서 減壓蒸溜(25mmHg)한 黃色의 粘稠液을 dry 벤젠에 용해시키고 이 溶液에 出發物과 同量의 piperoylchloride 벤젠 溶液을 $8\sim 10^\circ\text{C}$ 에서 1시간에 걸쳐 注加하고 서서히 실온으로 올려 48시간 반응시켰다. 反應物에다 물 5ml를 가하여 室溫에서 16時間 加水分解하고 生成된 沈澱物을 上記 方法과 同一 條件으로 처리하였다.

各 合成物의 融點, 收得量, 分析值를 Table I에 綜合하였다.

藥理作用—中樞抑制作用의 活性測定은 前報¹⁾와 동일하게 실시하였다.

분배 계수의 측정—200ml 삼각 플라스크에 물 50ml와 에틸 50ml를 넣고, 1,000rpm의 磁石 攪拌機로 혼합하면서 피페린 및 각 시료 300~600mg을 가하고 $30\pm 1^\circ\text{C}$ 에서 1시간 교반하였다. Millipore filter (0.8 μ)로 濾過한 다음, 水층과 에틸층을 분리하여 각 溶質의 量을 吸光度法으로 측정하여 그 結果를 Table I에 表示하였다.

實驗 結果 및 考察

合成—종래의 피페린^{5,6)} 및 피페린산의 數種 아미드 誘導體⁷⁾의 合成은 piperoyl chloride에 2倍 (mole比)의 피페리딘 또는 해당 아민을 벤젠 中에서 反應시켜 아미드를 合成하거나 또는 高價의 아민인 경우, Schotten-Baumann 反應에 의하여 해당 아미드를 合成한 報告가 있으나, 前者는 非經濟的이며 특히 後者의 경우는 收得率이 매우 낮은 경우가 있다.³⁾ 著者들은 이러한 短點을 排除하고 高價의 아민類에도 적용할 수 있는 合成法으로, piperoyl chloride를 非水溶媒 中에서 3級 아민인 triethylamine을 scavenger로 하여 아미드 결합을 형성하는 方法을 택하였다.

piperoylchloride와 置換 피페리딘과의 縮合은 어떠한 置換基의 種類인가를 막론하고, triethylamine의 scavenger 存在下, 當量 對 當量 反應이 가능하였다. 또한 piperoyl chloride 1 mole에 대해서 置換 피페리딘 2 mole을 scavenger 없이 反應시킬 때도 양호한 收得量으로 해당 아미드를 합성할 수 있었다.

N-piperoyl-2-methylpiperidine (I)과 N-piperoyl-2,6-dimethyl piperidine (IV)의 收得量이 각각 75.5%, 71.4%로 比較的 낮은 것은 메틸기에 의한 입체적 장애에 起因하는 것으로 思料된다. piperoyl chloride와 hydroxypiperidine의 縮合에 의한 아미드 결합 形成時, 예상되는 에스테르화의 副反應을 抑制키 위하여, hydroxypiperidine의 OH基를 HMDS와 TMCS를 組合하여 trimethylsilylether 형태로 保護한 후 N-acylation을 시도한 결과, 副反應 없이 目的物質을 얻을 수 있었다.

Hydroxypiperidine의 silylation은 HMDS만으로는 反應이 전혀 進行되지 않았다. 따라서 著者는 Sweeley 등⁸⁾의 方法을 변형한 反應, 즉 HMDS와 TMCS로 조합하여 反應시킴으로서 容易하게 silylation을 시킬 수 있었다. 이것은 피페리딘 環의 OH基가 탄수화물의 polyhydroxy基와 類似한 反應性을 갖고 있음을 시사하고 있다.

한편 silylation 速度는 3-hydroxypiperidine 7시간이 4-hydroxypiperidine 17시간 보다 더 빨랐다. 이것은 trimethylsiliconium ion이 電子密度가 큰 窒素에 인접한 OH基에 보다 큰 친화력을 갖

Table II—Acute toxicity and central nervous depressant activities of piperine derivatives.

Compound	Acute toxicity		sc PTZ ¹⁾		sc STN ²⁾		MES ³⁾		RR ⁴⁾		ip HB ⁵⁾		
	LD ₅₀ mg/kg p.o.	Died/ Used	Dose mg/kg p.o.	Conv./ Used	Dose mg/kg p.o.	Died/ Used	Dose mg/kg p.o.	Conv./ Used	Dose mg/kg p.o.	Dropped/ Used	Dose mg/kg p.o.	Sleeping time (min) (mean±S.E.)	Prolon- gation (%)
Control				8/10		8/8		10/10		0/10		14.7±2.45	
Piperine	1636.8		200	4/10	75	4/8	1300	10/10	90	6/10	18	41.7±3.54	183.7**
I	1095 (799-1051) ^a		200	5/10	40(22-73) ^b		500	8/10	200	2/10	30	33.2±3.88	116**
II	1455(1119-1891) ^a		200	7/10	37(23-58) ^b		700	7/10	200	1/10	30	19.5±1.18	32.7*
III	1416(1118-1688) ^a		200	7/10	75	4/8	700	10/10	200	1/10	30	17.5±2.67	19
IV	>2000	2/8	200	7/10	75	4/8	1300	10/10	200	0/10	30	16.4±1.59	11.6
V	>2000	3/8	200	6/10	75	5/8	1300	10/10	200	1/10	30	13.2±1.85	-10.2
VI	>2000	1/8	200	7/10	75	7/8	1300	10/10	200	0/10	30	21.1±2.19	43.5*
VII	>2000	1/8	200	10/10	75	4/8	1300	10/10	200	0/10	30	25.0±3.49	70.1*
VIII	>2000	2/8	200	9/10	75	6/8	1300	10/10	200	1/10	30	16.0±3.28	8.8
IX	705 (402-1234)		200	5/10	75	7/8	200	10/10	200	2/10	30	42.0±2.46	185.7**
X	70 (54-91)		30	10/10	30	8/8	60	10/10	30	5/10	30	28.4±1.54	93.2

1) sc PTZ, subcutaneous pentetrazole (85 mg/kg) seizure threshold. 2) sc STZ, subcutaneous strychnine (1.5mg/kg) mortality test.
 3) MES, maximal electroshock (50mA, 0.2sec.) seizure test. 4) RR, rotarod test. 5) ipHB, intraperitoneal hexobarbital (50mg/kg) hypnosis test, ten mice were used in each group. a. LD₅₀ (95% Confidence limit). b. ED₅₀ (95% Confidence limit). * Significantly different from the control group (p<0.05). ** Significantly different from the control group (p<0.01).

고 있기 때문인 것으로 推定된다. Silylation工程에서 과잉의 HMDS를 구축하기 위한 分別蒸溜시 生成物質과의 共沸로 인한 損失을 排除할 수 없는 點, N-acylation을 행한 후 加水分解하는데 長時間이 소요되는 點, 특히 未反應의 hydroxypiperidine과 최종물질의 溶解성이 類似함에 따라 精製操作이 까다로운 點 등의 短點을 개선하기 위하여 hydroxypiperidine을 silylation하지 않고 piperoyl chloride로 直接 N-acylation을 實施한 結果, 예상했던 에스테르화의 副反應은 일어나지 않았으며, 汎濫한 保護基를 가진 O-trimethylsilylether로 合成한 物質과 同一한 化合物을 얻을 수 있었다.

中樞抑制作用—合成한 10種의 피페린 誘導體(I~X)에 대하여 急性 毒性 및 中樞神經 抑制作用을 比較 檢討한 바 Table II에 표시한 結果를 얻었다.

1) 急性 毒性: N-piperoyl-2,6-dimethylpiperidine (IV), N-piperoyl-3,5-dimethylpiperidine (V), N-piperoyl-4-phenylpiperidine (VI), N-piperoyl-4-benzylpiperidine (VII), N-piperoyl-3-hydroxymethylpiperidine (VIII)의 5種 化合物은 LD₅₀이 2,000mg/kg 이상으로 毒性이 매우 弱했다. 한편 N-piperoyl-2-methylpiperidine (I), N-piperoyl-3-methylpiperidine (II), N-piperoyl-4-methylpiperidine (III)의 3種 化合物은 LD₅₀이 각각 1,095mg/kg, 1,455mg/kg, 1,416mg/kg으로 다소 毒性이 컸고, N-piperoyl-3-hydroxypiperidine (IX)과 N-piperoyl-4-hydroxypiperidine (X)은 각각 705mg/kg, 70mg/kg으로 피페린(LD₅₀ 1636.6mg/kg)에 비하여 매우 강한 急性 毒性을 나타냈으며, 특히 化合物 X은 合成한 10種中 제일 毒性이 强하였다.

2) 抗 pentetrazole 痙攣作用: 化合物 I 및 IX는 마우스 10마리 중 5마리의 痙攣이 抑制되어 피페린(ED₅₀ 2,115mg/kg)⁴⁾과 同一用量에서 pentetrazole痙攣에 대해 대등한 拮抗效果가 있었다. 其他 化合物은 pentetrazole 痙攣에 대한 拮抗效果가 弱하거나 거의 없었다.

3) 抗 스트리키닌 痙攣作用: 脊髄에 作用하여 痙攣을 일으키는 스트리키닌에 대한 抗痙攣作用 實驗에서는 化合物 I, II가 가장 強力하여, 피페린보다 더 強力한 抗痙攣作用을 나타냈으며, ED₅₀을 測定한 結果, 각각 40mg/kg, 37mg/kg이었다. 한편 化合物 III, IV, VII은 피페린 投與群과 同一用量에서 마우스 8마리중 4마리의 痙攣이 抑制되어 同一 強度의 痙攣 拮抗作用을 나타냈다. 그 외 化合物 V, VI, VII, IX, X은 마우스 8마리중 1~3마리 만의 痙攣이 抑制되어 抗痙攣作用이 다른 物質보다 弱하였다.

4) 抗 電氣 痙攣作用: 化合物 I, II에서, 마우스 10마리 중 각각 2마리, 3마리의 痙攣이 抑制되어 弱한 拮抗作用을 나타냈고, 나머지 化合物 III~X은 對照物質인 피페린과 마찬가지로 抗痙攣作用이 없었다.

5) Rotarod實驗: 化合物 X은 30mg/kg의 投與量에서 마우스 10마리중 5마리가 回轉棒에서 추락하여 피페린보다 강한 筋肉 弛緩作用을 나타냈다. 나머지 化合物 I~IX은 마우스 10마리중 1~2마리만 추락하여 筋肉 弛緩作用이 매우 弱하였다.

6) 睡眠增強作用: Sod. hexobarbital만을 投與한 對照群의 睡眠時間은 14.7±2.45분이었으며 피페린 18mg/kg을 함께 投與한 群은 41.7±3.54分으로 183.7%의 睡眠時間 延長效果를 나타냈다. 이에 比해 각 化合物은 그 약 2倍量인 30mg/kg 投與時 化合物 II, IX, X이 각각 116%, 185.7%, 93.2%의 有意性있는 강한 睡眠 增強作用을 나타냈고, 化合物 I, VI, VII은 32.7~70.1%의 睡眠 增強作用을 나타냈다. 다른 4種 化合物은 거의 睡眠 增強作用이 없었다.

이상의 藥理作用 實驗結果를 綜合考察하여 보면, 피페린의 3,4-methylenedioxyphenyl基, 2,4-pentadienyl基 및 이미드 결합을 藥理活性의 主作用團으로 推定했던 點에 비추어 새로운 化合物

이 나타내는 多様な 藥理作用은 피페리딘 環의 2, 3, 4, 5, 6-一位의 置換基가 中樞神經 抑制活性的 重要한 役割을 할 수 있다는 새로운 事實을 暗示했다.

置換基에 따른 毒性關係는, OH基 > CH₃基(1개) > CH₃基(2개) 順으로 强하여 親水性인 置換基에서 毒性이 کم을 알 수 있다.

抗痙攣作用의 化學構造-活性 關係를 보면 메틸基가 1개 置換된 化合物 I, II, III의 경우 抗스트리키닌 痙攣作用이 매우 强하였는데 이것은 水素보다 親油性인 메틸基로 인하여 分配 계수가 피페리딘보다 大, 血流에 있어서 藥物分子의 腦組織 透過速度가 빠르고 中樞神經系의 毛細管 移行速度가 大기 때문인 것으로 推定된다.

메틸 誘導體 中에서도 amid 결합에 隣接한 메틸基를 가진 化合物일수록 抗痙攣作用과 睡眠 增強作用이 强하여 특히 化合物 I(amid 결합에 제일 인접한 메틸基를 가진)은 pentetrazole痙攣에 대한 强한 保護作用과 完滿한 抗 電氣 痙攣作用도 견비한 反面, 筋肉 弛緩作用이 적기 때문에 보다 좋은 抗痙攣藥으로서 開發의 餘지가 있겠다.

또한 메틸基가 2個 置換된 化合物 IV과 벤질基가 置換된 化合物 VII은 抗 pentetrazole 痙攣作用은 弱하고 스트리키닌 痙攣에 대한 抑制作用만 强한 選擇性을 갖는데 反하여 3位에 OH基가 置換된 化合物 IX은 pentetrazole 痙攣에만 選擇的인 抑制作用을 갖는 것으로 나타났다.

한편 睡眠 增強作用의 化學構造-活性 關係는 一般的으로 수산기 誘導體 化合物 IX 및 X이 메틸 誘導體 보다 더 强하였던 바(抗痙攣作用은 메틸유도체가 수산기유도체 보다 더 强함) 더 研究가 必要하겠으나, enol性 OH基가 아닌 알코올性 OH基로 인하여 一般的인 1價 알코올에서 볼 수 있는 中樞神經 抑制 또는 痙攣作用에 起因된 것으로 推定된다. 이 수산기유도체도 메틸유도체와 같이 amid 결합에서 가까운 OH基 置換體일수록 睡眠 增強作用이 强하게 나타나는 共通的인 藥理 特性을 가진을 알 수 있으며, 化合物 IX은 抗 pentetrazole 痙攣作用을 갖는 睡眠藥으로서의 研究의 價値가 있다고 思料된다.

結 論

抗痙攣作用이 優秀하며 安全域이 넓고 同時에 副作用이 없는 새로운 中樞神經 抑制藥을 開發하고자, 피페리딘 誘導體 10種(I~X)을 合成하였으며, 아울러 이들 새로운 化合物의 藥理作用을 比較 檢討하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 치환된 피페리딘의 置換基 種類 與何를 막론하고 piperoyl chloride와 벤젠 溶媒下에서 Et₃N을 scavenger로 使用하여 縮合시켰을 때, 좋은 수득량으로 N-piperoyl-substituted-piperidine유도체를 合成할 수 있었다.
2. Hydroxypiperidine의 —OH基의 silylation은 HMDS만으로는 전혀 反應이 일어나지 않았으며, HMDS와 TMCS을 組合하여 silylation함으로써 副反應이 없는 N-acylation을 行할 수 있었고 silylation 速度는 3-hydroxypiperidine이 4-hydroxypiperidine보다 빨랐다.
3. piperoyl chloride와 치환된 피페리딘과의 反應時 2倍量(mole比)의 치환된 피페리딘을 使用함으로써 自體 scavenger에 의한 縮合反應이 可能하였다.
4. 合成 化合物中 N-piperoyl-2-methylpiperidine (I)과 N-piperoyl-3-methylpiperidine (II) 化合物은 피페리딘에 비해 스트리키닌에 대한 痙攣 抑制作用이 매우 強力하여 ED₅₀은 각각 40mg/kg, 37mg/kg이었으며 헥소바르비탈에 의한 睡眠 增強作用이 현저하였다.
5. N-piperoyl-4-methylpiperidine (III), N-piperoyl-2,6-dimethylpiperidine (IV), N-piperoyl-

4-benzylpiperidine (VII)의 3種 化合物은 피페린과 同等한 스트리키닌痙攣 抑制作用을 나타냈고, 化合物 IV, VII은 특히 毒性이 매우 낮아 安全域이 넓었다.

6. 化合物 I과 N-piperoyl-3-hydroxypiperidine (IX)은 抗 pentetrazole 痙攣作用이 强하였고 睡眠 增強作用도 强하였다.

7. 急性 毒性은 OH基를 가진 化合物 IX, X이 컸고, 특히 化合物 X은 全 化合物中 가장 强하여 LD₅₀이 70 mg/kg이었고, 反面에 메칠基 2개를 가진 化合物 IV, V와, 化合物 VI, VII, VIII이 弱하였다.

文 獻

1. 林中基, 李東雄, 李眞榮, 金蓮順, 禹源植, 李殷芳, Piperine誘導體의 合成 및 中樞抑制作用에 관한 研究 (I). 3, 4-Methylene dioxycinnamic acid誘導體. 약학회지 26, 189 (1982).
2. 殷載淳, 林中基, 金完柱, 禹源植, 李殷芳, Piperine誘導體의 合成 및 中樞抑制作用에 관한 研究(II). Piperic acid誘導體. 약학회지. 27, 283 (1983).
3. 李漢九, 林中基, 李殷芳, 禹源植, Piperine誘導體의 合成 및 中樞抑制作用에 관한 研究(III). N-Piperoyl acid誘導體. 약학회지, 27, 289 (1983).
4. W.S. Woo, E.B. Lee and K.H. Shin, Central nervous depressant activity of piperine, *Arch. Pharm. Res.* 2, 121 (1979).
5. L. Rügheimer, Künstliches Piperin, *Ber.* 15, 1390 (1982).
6. A. Ladenburg und M. Scholtz, Synthese der Piperinsäure und der Piperins, *Ber.* 27, 1858 (1894).
7. R. Grewet, W. Feist, H. Neumann and S. Kersten, Über die Inhaltsstoffe des Schwarzen Pfeffers, *Chem. Ber.* 103, 3752 (1970).
8. C.C. Sweeley, R. Bentley, M. Makita and W.W. Wells, Gas liquid chromatography of trimethylsilyl derivatives of sugars and related substance, *J. Am. Chem. Soc.* 85, 2497 (1963).