

## 미녹시딜과 살리실산의 축합

김경순 · 신준수 · 강경환 · 서영거 · 김박광<sup>†</sup>  
서울대학교 약학대학

(Received August 14, 1995)

### Condensation of Salicylic Acid with Minoxidil

Kyoung Soon Kim, Joon Su Shin, Kyoung Hwan Kang,  
Young-Ger Suh and Bak-kwang Kim<sup>†</sup>

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 152-742, Korea

**Abstract**—N-4-salicyloamide-2-amino-6-piperidinopyrimidine 3-oxide (SALMI) was synthesized by condensation of chloride compound of salicylic acid with minoxidil in organic solvent, and was identified by MS, UV and IR etc.

**Keywords** □ N-4-salicyloamide-2-amino-6-piperidinopyrimidine 3-oxide (SALMI), salicylic acid, condensation.

미녹시딜은 말초혈관 확장제로서 중증의 고혈압 환자 치료에 사용되어 왔으나<sup>1, 3)</sup> 고혈압환자에게서 다모증 현상이 나타난 이후 탈모증 치료제로서 연구 개발되었다.<sup>4, 7)</sup> 이 약물의 약효로서는 남성형 탈모증 환자 중 약 77% 정도가 발모현상을 나타낸다고 보고되어 있다.<sup>8, 12)</sup> 그리고 살리실산은 음식물의 방부제 및 의약품으로 각 막박리에 쓰여지어지고 있다.

Minoxidil이 가지는 발모촉진 작용은 모발의 성장이 투약 중지와 더불어 일어나며, 치료전의 상태로 환원되는 기간이 짧은 단점이 있다. 저자 등은 이런점을 개선하기 위해 두피 모근세포로의 약물의 침투성을 높여, 보다 지속적인 새로운 육모제를 개발할 목적으로 미녹시딜의 4-NH<sub>2</sub> 위치에 살리실산을 도입하여 새로운 물질(이하 SALMI로 칭함)을 만들어 우선 그 물성 및 정량법 등을 검토하였다.

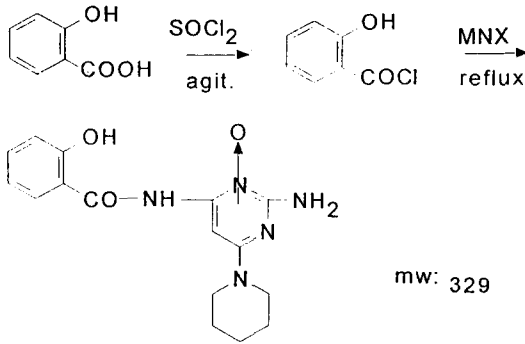
#### 실험방법 및 결과

**시약 및 기기** - 살리실산은 시판 특급품을 구입하여

정제하지 않고 그대로 사용하였으며, 미녹시딜은 주식회사 중외제약으로부터 기증 받았다. 완충액은 Elving<sup>13)</sup>의 방법에 따라 완충액을 조제하였고 (이온강도 0.5), 그 외 기타시약은 시판 특급품을 구입하여 사용하였다. 칼럼크로마토그래프용 silica gel은 Kiesel 60 (230-400 mesh ASTM Merck AA 9385), 박층크로마토그래프용 precoated plate는 Kiesel 60 F<sub>254</sub> (layer thickness 0.25 mm, 20×20, Merck Art.5615)를 사용하였으며, 발색은 254 nm UV lamp 및 dragendorff 시약을 사용하였다. 사용한 기기로는 Gallenkamp melting point apparatus, Shimadzu UV-2100 UV-visible recording spectrophotometer, Perkin Elmer 1710 IR spectrophotometer, MS는 VG Trio-II GC/MS system을 이용하였다.

**살미의 합성** - Scheme I에 표시한 바와 같이 살리실산 (660 mg, 4.78 mM)을 환저 플라스크에 넣고 N<sub>2</sub> gas로 치환시킨 후 SOCl<sub>2</sub> (1 ml)를 가해 magnetic stirrer를 사용하여 녹인 다음 약 800 °C에서 4시간 reflux하였다. 반응완결 후 여기에 적당량의 CCl<sub>4</sub> (10 ml 정도)를 가해 감압농축하여 과량의 SOCl<sub>2</sub>를 제거한 후 얻은 염화물을 N<sub>2</sub> gas 기류하에 무수 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 ml)를 가하여 녹였다. 이 용액에 Minoxidil (1000 mg,

<sup>†</sup> 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 02-880-7841 (팩스) 02-878-1652



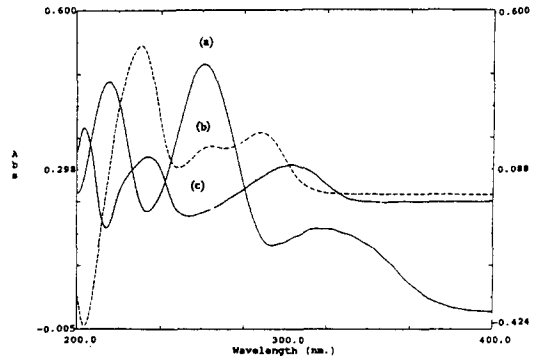
**Scheme I** — Synthesis of SALMI.

4.78 mM)을 재빨리 가한 다음 실온에서 24시간 교반하였다. 이 반응 혼합물을 증발농축한 다음 그 일부를 전개용매  $\text{CHCl}_3$ :MeOH (10:1)을 써서 TLC 한 후 dragendorff 시약으로 발색시켜 Compound I ( $R_f=0.25$ ), II ( $R_f=0.39$ ), III ( $R_f=0.63$ ) 및 IV ( $R_f=0.69$ )를 확인하고, 계속해서 이 반응물을 전개용매  $\text{CHCl}_3$ :MeOH=20:1로 칼럼 크로마토графи를 실시하여 분리한 침전을  $\text{CHCl}_3$ :MeOH=2:1를 써서 재결정하였다. 이 침전을 소량의 DMSO 용매에 녹인 다음<sup>11)</sup> 약 3시간 방치한 후  $\text{CHCl}_3$ :MeOH=20:1로 칼럼 크로마토графи를 행하여 DMSO를 대부분 제거하고 다시 진공감압하에 DMSO를 완전히 제거하여 백색분말인 Compound II (SALMI) 780 mg을 얻었다.

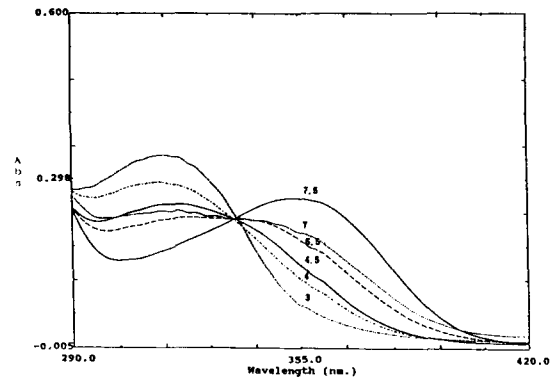
**살미의 염산염 제조** - 살미 100 mg을 THF 100 ml에 녹인 후 빙욕상에서 교반기를 장치한 안전깔때기를 사용하여 진한  $\text{H}_2\text{SO}_4$  약 10 ml를  $\text{NH}_4\text{Cl}$ 에 떨어뜨려 발생시킨 염산가스를 이 액에 통해 반응시킨 후 감압농축하여 백색분말의 염산염 95.4 mg을 얻었다.

**살미의 Na염 제조** - 살미 100 mg에 당량의 진한 NaOH를 가해 초음파진탕하여 반응시킨 다음 여과하여 얻은 여액을 감압농축 (또는 동결건조)시켜 백색분말의 Na염 37.5 mg을 얻었다.

**성상** - 살미는 mp 240°C인 백색 분말로서, 1 mg을 용해시키는데 필요한 용매의 ml량은 진한 수산화나트륨 및 염산에는 잘 녹으며, DMSO 1.2 ml, DMF 2 ml, 디클로로메탄 5 ml, 디옥산 6 ml, 클로로포름 7 ml, 메탄올, 아세톤, 헥산, 디에틸에테르, 사염화탄소 및 아세트니트릴은 모두 10 ml 이상이었다. 물, PEG 및 글리세린에는 불용이었다. 그리고 염산염은 mp 192°C, dec 194°C인 백색분말로서, 1 mg에 대하여 메탄올 3 ml, PEG 3 ml, 1N-NaOH 4 ml, 에탄올 및 글



**Fig. 1** - UV-Spectra of SALMI<sup>(a)</sup>, Minoxidil<sup>(b)</sup> and Salicylic acid<sup>(c)</sup> (Absorbance referred (a): left, (b), (c): right).



**Fig. 2** - Ultraviolet visible absorption spectra of SALMI solution by pH change: cell length 1 cm.

리세린은 각 4 ml 정도였으며, 물에는 10 ml 이상이었다. 또한 Na염은 dec 229°C이며, 용해성은 살미에 비해 알코올에 3배정도 더 용해하였다.

**살미의 UV 흡수스펙트럼 및 경시변화** -  $1 \times 10^{-5}$  M 살미 메탄올용액의 UV 흡수스펙트럼은 Fig.1에 표시하여 두었으며, 경시변화는  $2 \times 10^{-5}$  M 살미 메탄올용액에 대하여 일정한 시간간격으로 1일 동안 최대 흡광도장 315 nm에서 흡광도를 측정하여 검토해 본 결과 거의 변화가 없었다.

**액성변화에 따른 흡수 스펙트럼** -  $2 \times 10^{-5}$  M 살미 메탄올용액에 대하여 완충용액을 사용하여 pH 3.0~7.5로 액성을 변화시켜 가면서 각각의 흡수스펙트럼변화를 측정해 본 결과 Fig. 2에 표시한 바와 같이 등전점 (isobestic point)은 335 nm이어서 이 과정을 사용함으로써 간편하게 흡광도법으로 살미의 함량을 측정할 수 있었다.

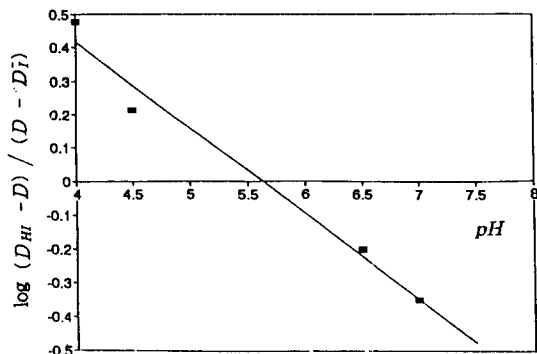


Fig. 3 -- Plot of  $\log \frac{(D_{HI} - D)}{(D - D_I)}$

**해리 정수** - 살미의 pK는 다음 식에 의하여 구하였다.

$$pK = pH - \log \frac{(D_{HI} - D)}{(D - D_I)}$$

상기 식에서 흡수스펙트럼 중 흡광도의 최대치를  $D_{HI}$ , 최소치를  $D_I$ 로 하고 그 중간에 있는 스펙트럼의 동일파장에 있어서의 흡광도를  $D$ 라 하였다. pH 및  $\log(D_{HI}-D)/(D-D_I)$ 를 plot하여 그 직선상의 pH축을 지나는 점으로부터 pK를 구하였다. Fig.2로부터 액성 변화에 따른 살미 메탄올용액의 흡광도는 파장 355 nm에서 0.072(pH 3.0), 0.120(pH 4.0), 0.145(pH 4.5), 0.190(pH 6.5), 0.205(pH 7.0), 0.264(pH 7.5)였으며, 이 값들을 사용하여 계산한 pK값은 Fig.3에 표시된 바와 같이 대략 5.63 (corr. coeff. : 0.988)이었다.

**살미 및 그 염의 구조** - Compound II는 mp 240 °C의 물질로서 원소분석, UV, IR, MS 및 NMR을 측정 한 결과, UV 스펙트럼으로부터 261 nm, 315 nm에서 피페리디노피리미딘의 특징적인 흡수밴드를 볼 수 있었으며, IR 스펙트럼으로부터 3473  $cm^{-1}$ 에 1급 아민의 2개의 NH 신축진동, 3182  $cm^{-1}$ 에 OH 신축진동, 2368  $cm^{-1}$  근처에 NH 신축진동, 1685  $cm^{-1}$ 에 2급 아민의 C=O peak, 1646  $cm^{-1}$ 에 pyrimidine핵의 C=C peak, 1605와 1450  $cm^{-1}$ 에 방향환 C=C peak, 1545  $cm^{-1}$ 에 C=C와 중복된 강한 C=N peak, 1340  $cm^{-1}$ 에 CN 신축, 1301  $cm^{-1}$  근처에 N-O 신축, 1218  $cm^{-1}$ 에 C-O 신축 및 780  $cm^{-1}$  근처에 NH 변의변각진동이 관찰되었다. 그리고 MS 스펙트럼으로부터  $[M]^+$  m/z

329인 물질임을 알 수 있다. 또 NMR 스펙트럼에서  $\delta$  1.44~1.74 ppm과  $\delta$  3.42~3.55 ppm에서 나타나는 peak는 piperidine의 10개의 proton,  $\delta$  6.13~5.91 ppm에 나타나는 peak는 2-NH<sub>2</sub>의 proton,  $\delta$  6.79~6.80 ppm에 나타나는 peak는 4'CH와 5'CH의 proton,  $\delta$  7.22~7.27 ppm에 나타나는 peak는 3'CH, 5CH의 proton,  $\delta$  7.89 ppm에 나타나는 peak는 6'CH의 proton으로 추정된다. 이상의 데이터 및 McCall 등<sup>14)</sup>의 2,4-diamino-6-piperidinopyrimidine 3-oxide의 유도체 논문으로부터 4-아미노 균이 살리실산과 결합된 분자량이 329 (C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>O<sub>3</sub>N<sub>5</sub>)인 N-4-살리실로아미드-2-아미노-6-피페리디노피리미딘 3-옥사이드 (SALMI)로 동정되었다. Compound I (mw 209)은 미반응의 미녹시딜로 확인되었고, Compound III은 이들 물질의 혼합물질로 추정되며, Compound IV (mw 480)는 아스피린 4분자가 축합된 물질로 확인되었다.<sup>15)</sup> 그리고 살미 염산염은 분자량이 365 (C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>O<sub>3</sub>N<sub>5</sub>Cl), mp 192 °C (dec 194 °C), UV  $\lambda_{max}^{MeOH}$  261 및 319 nm이며, IR의 2560  $cm^{-1}$  peak로부터 제 1급아민의 염산염인 것을 알 수 있었다.<sup>16)</sup> Na염은 분자량이 361 (C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>O<sub>3</sub>N<sub>5</sub>Na), dec 229 °C, UV  $\lambda_{max}^{MeOH}$  261 및 319 nm로서 IR 스펙트럼이 살미와 거의 동일하였다.

**Comp. II** - Anal. Calcd. for C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>O<sub>3</sub>N<sub>5</sub> (mw : 329): C 58.35%, H 5.81%, O 14.57%, N 21.26%, found: C 57.82%, H 6.42%, O 16.71%, N 21.14%. 수득율: 47%, mp: 240 °C, Rf: 0.39 (CHCl<sub>3</sub> : MeOH = 10 : 1), UV  $\lambda_{max}^{MeOH}$  nm: 203, 261, 315, IR  $\nu_{max}^{KBr}$   $cm^{-1}$ : 3473(NH), 3182(OH), 2368(NH), 1685(C=O), 1646(pyrimidine핵의 C=C double bond), 1545, 1530, 1460, 1340(CN), 1301(N-O), 1228(C-O), 780(NH oop), MS(EI, m/z,rel.int.): 329(M)<sup>+</sup>(72.4), 313(29.1), 209(100), 192(41.3), 164(21.5), 84(87.5), <sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ ppm): 1.44~1.74(6H, m, piperidine), 3.42~3.55(4H, m, piperidine), 6.13~5.91(2H, dd, 2-NH<sub>2</sub>), 6.79~6.80(2H, qq, 4'CH, 5'CH), 7.27~7.39(2H, m, 3'CH, 5CH), 7.89(1H, d, 6'CH)

**Comp.II HCl** - Anal. Calcd. for C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>O<sub>3</sub>N<sub>5</sub>Cl (mw:365): C 52.60%, H 5.48%, O 13.15%, N 19.18%, found: C 53.04%, H 4.98%, O 13.76%, N 20.65%. 수득율: 86%, mp: 192 °C, UV  $\lambda_{max}^{MeOH}$

nm: 261, 319, IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3236, 3180, 2955, 2560( $-\text{H}_2\text{N}^+\text{H Cl}^-$ ), 2368, 1690, 1655, 1608, 1545, 1530, 1460, 1310, 1208, 765. MS(EI, m/z, rel. int.): 329( $[\text{M}-\text{HCl}]^+$  (1.40), 313 (9.41), 241(25.0), 209 (2.70), 192(1.35), 164(3.20), 121(100), 92(69.66), 84(5.72)

**Comp. II Na** -  $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{O}_3\text{N}_3\text{Na}$  (mw : 361), 수득율: 35%, dec: 229°C, UV  $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$  nm: 261, 319, IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3450, 2950, 2661, 1668, 1641, 1604, 1548, 1456, 1310, 1217, 761

**살미의 검량선 작성** -  $1-10 \times 10^{-5}$  M 살미 메탄올표준용액을 1 cm 셀을 사용하여 등전점 335 nm에서 흡광도를 측정하여 검량선을 작성하였다. 검량선식은  $Y = 1.769 \times 10^4 X - 0.002619$  (상관계수: 0.9998)로서 양호한 직선성을 나타내었다.

**살미시액에 의한 Fe(III) 정량** - Fe(III) 메탄올검액 ( $10^{-5}$ - $10^{-4}$  M에 해당)을 삼각플라스크에 넣고, 여기에  $2 \times 10^{-4}$  M의 살미 메탄올용액 일정과량을 가해 5분간 진탕반응시킨 다음 메탄올을 대조로 반응생성물의 최대흡광파장 522 nm에서 흡광도를 측정하여 검량선식  $Y = 1.987 \times 10^3 X + 0.0018$  (상관계수: 0.9998)을 써서 철(III) 함량을 계산한 결과 99.5% (표준편차는 1.25)로서 거의 이론치와 비슷하였다. 살미 메탄올용액은 0.01N-HCl 1적을 가하여 완전히 녹인 후 메탄올로 희석하여 조제하였다.

## 결 론

살미 합성에 있어서 살리실산으로부터 염화물을 얻기 위해서  $\text{SOCl}_2$ 를 가한 후 80°C에서 4시간 reflux 시켰는데 이때 사용한  $\text{SOCl}_2$ 는 반응성은 낮지만 액체이므로 반응 후에 과량의  $\text{SOCl}_2$ 는 증류함으로써 쉽게 제거할 수 있어서 염화물을 얻는데 편리하였다. 그리고 합성한 살미는 N-4-살리실로아미드 유도체와 N-2-살리실로아미드 유도체가 동시에 생성됨으로 이것을 DM-SO 용매에 녹이면 N-2-살리실로아미드 유도체가 점차적으로 N-4-살리실로아미드 유도체로 변하여 순수한 물질을 얻을 수 있었다.<sup>14)</sup> 살미의 수득율은 반응온도 80°C에서 대략 47%였다.  $\text{CHCl}_3$ : MeOH (20:1) 용매를 이동상으로 하여 칼럼 크로마토그래피를 실시하여 순수한 물질을 분리, 재결정한 다음 원소분석, IR, MS 및 NMR 등의 데이터로부터 미녹시딜의 4-아미노

군이 살리실산과 결합된 N-4-살리실로아미드-2-아미노-6-피페리디노피리미딘 3-옥사이드 ( $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{O}_3\text{N}_3$ : mw 329)로 동정되었다. 그 외 기타 물성으로 해리 정수등을 설정하였다. 그리고 정량법은  $1-10 \times 10^{-5}$  M 농도범위의 살미 메탄올표준액을 등전점 335 nm에서 흡광도를 측정하여 작성한 검량선으로부터 그 함량(%)을 구하는 흡광광도법을 확립하였으며, 검량선식은  $Y = 1.769 \times 10^4 X - 0.002619$  (상관계수: 0.9998)였다. 그리고 시료중의 철(III) 정량시 검액에 살미메탄올 표준액을 일정 과량가해 반응시킨 후 522 nm에서 흡광도를 측정 한 다음 검량선식  $Y = 1.987 \times 10^3 X + 0.0018$  (상관계수: 0.9998)을 써서 계산한 결과 시료중의 철(III) 함량은  $99.5\% \pm 1.25\%$  로서, 새로운 철(III) 정량시약으로서의 활용성이 기대된다.

## 감사의 말씀

이 연구는 1995년도 서울대학교 발전기금 일반학술연구비 및 약학대학 교육연구재단 학술연구조성비의 일부로 수행되었으며, 이에 심심한 사의를 표하는 바이다.

## 문 헌

- 1) Katritsky, A. R. and Lapowski, J. M.: Chemistry of the Heterocyclic N-oxides, Academic Press, New York, N. Y., 22, (1971).
- 2) McCall, J. M., Aiken, J. W., Chidester, C. G., Ducharme, D. W. and Wendling, M. G.: Pyrimidine and Triazine 3-oxide sulfates: A New Family of Vasodilators. *J. Med. Chem.* **26**, 1791 (1983).
- 3) Carlson, R. G. and Feenstra, E. S.: Toxicologic Studies with the Hypotensive Agent Minoxidil. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **39**, 1 (1977).
- 4) Frentz, G.: Topical Minoxidil for Extended Areata Alopecia. *Acta. Derm. Venereol (Stockh)* **65**, 172 (1985).
- 5) Fiedler-Weiss, V. C., West, D. P., Buys, C. M. and Rumsfeld, J. A.: Topical Minoxidil Dose-Response Effect in Alopecia Areata. *Arch. Dermatol.* **122**, 180 (1986).
- 6) De Villez, R. L.: Topical Minoxidil Therapy in

- Hereditary Androgenetic Alopecia. *Arch. Dermatol.* **121**, 197 (1985).
- 7) Fenton, D. A. and Wilkinson, J. D.: Alopecia areata treated with topical minoxidil. *JR. Soc. Med.* **75**, 963 (1982).
  - 8) Kook, Y. K.: Topical Therapy in Alopecia with 2% Minoxidil Solution. *The Korean Central J. Med.* **50**, 39 (1986).
  - 9) Hahn, C. S.: The Effect of Topical Minoxidil Therapy in Alopecia. *The New Medical J.* **29**, 5 (1986); *ibid.* **29**, 61 (1986).
  - 10) Kang, W. H., Lee, K. H., Koh, Y. J., Song, D. H. and Park, S. H.: Effect of Topical Minoxidil in Male Pattern Alopecia. *The New Medical J.* **29**, 1 (1986).
  - 11) Park, S. H.: Topical Minoxidil Therapy in Male pattern Baldness and Alopecia Areata. *The New Medical J.* **29**, 71 (1986).
  - 12) Kim, S. T.: A Clinical Study of Topical Minoxidil Therapy in Male pattern Baldness and Alopecia Areata. *The New Medical J.* **29**, 51 (1986).
  - 13) Elving, P. J., Markowitz, J. M. and Rosenthal, I.: Preparation of buffer systems of constant ionic strength. *Anal. Chem.* **28**, 1179 (1956).
  - 14) McCall, J. M., TenBrink, R. E., Royer, M. E. and Ko, H.: The Reaction of 2,4-Diamino-6-piperidinopyrimidine 3-Oxide with Acid Anhydrides. *J. Heterocyclic Chem.* **15**, 1529 (1978).
  - 15) Baker, W., Olis, W. D. and Zealley, T. S.: Di-, Tri-, tetra and hexa-salicylides. *J. Chem. Soc.* 201 (1951).
  - 16) IR Absorption Spectroscopy (Practical), Nakanishi Koji, Nankodo, Japan, 1960, p88