

유제놀의 아스피린 유도체에 관한 물성 및 육모효과

신준수 · 김종호 · 김경순 · 엄정록* · 김박광[‡]

서울대학교 약학대학, *중앙대학교 약학대학

(Received July 7, 1997)

Properties and Hair Growth Effect of Eugenol-Aspirin Derivative

Joon Su Shin, Jong Ho Kim, Kyoung Soon Kim,
Jeong-Rok Youm* and Bak-Kwang Kim[‡]

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

^{*}College of Pharmacy, Chung Ang University, Seoul 156-756, Korea, 449-900, Korea

Abstract—We have synthesized acetylsalicylic acid derivative of eugenol. And also, physico-chemical properties and analysis on this compound were examined. The correlation coefficient of the calibration curve in methanol solution was 0.9998. The hair growth stimulation of eugenol derivative on the hair of black mouse (C57BL/6), was also carried out using Implant method. When its ethanol solution was administered to the black mouse by route of skin, eugenol derivative promoted the growth of hair.

Keywords □ acetylsalicylic acid, eugenol, synthesis, properties, analysis, 2-(acetyloxy)benzoyl eugenol, black mouse (C57BL/6), hair growth effect.

육모제에 관한 연구는 오래전부터 많은 흥미를 갖고 있는 연구과제중의 하나로서, 최근 혈압강화제인 미녹시딜의 부작용이었던 다모증을 이용, 육모제가 개발되면서 육모제에 대한 연구가 활발히 진행되어 왔다.¹⁻⁷⁾ 저자들은 육모제 개발연구의 일환으로서⁸⁻¹¹⁾ 현재 양모제로 쓰여지고 있는 유제놀¹²⁾에, 모근 세포의 혈액 순환을 증가시키기 위하여 해열진통제로 쓰여지고 있는 아세틸살리실산을 가한 다음 축합반응을 이용하여 새로운 물질(이하 EUA 라 칭함)을 만들어 그 물성을 확인하고 정량법을 확립하였으며, Hideo Uno 등¹³⁾이 이용한 방법에 따라 육모활성 시험을 행하였다.

실험방법 및 결과

시약 및 기기 - 아세틸살리실산 및 유제놀 등은 시판

특급품을 구입하여 정제하지 않고 그대로 사용하였다. 칼럼크로마토그래프용 silica gel은 Kiesel 60 (230~400 mesh ASTM Merck AA 9385), 박층크로마토그래프용 precoated plate는 Kiesel 60 F₂₅₄(layer thickness 0.25 mm, 20×20, Merck Art. 5615)를 사용하였으며, 발색은 254 nm UV lamp 및 dragen-dorff시약을 사용하였다. 사용한 기기로는 Gallenkamp Melting point apparatus, shimadzu UV-2100UV-visible recording spectrophotometer, Perkin Elmer 1710 IR spectrophotometer, MS는 VG Trio-II GC/MS system 등을 사용하였다.

육모시험 방법 - 시험동물은 black mouse(C57BL/6), 생후 45~53일, 무게 23~28 g을 사용하며, 시험물질은 양성대조군으로 minoxidil(2%), 음성대조군으로 vehicle(30% alc) 및 2.5% Eua 에탄올 시험액이다. Implant method에 의한 시험방법은 1) black mouse (C57BL/6), 생후 45~53일, 23~28 g을 이용하여 clipper(Oster #40) 및 electric shaver로 등 부위의 모

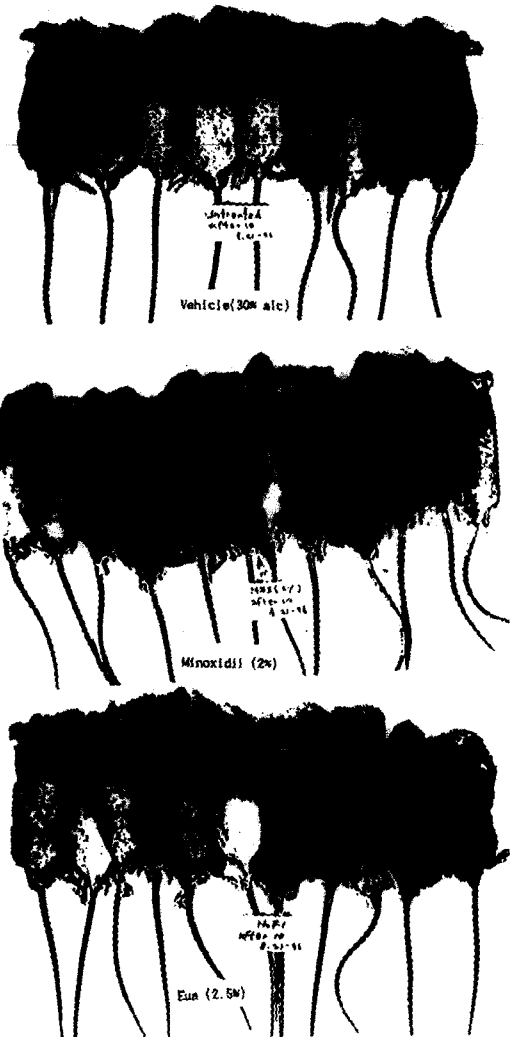
[‡] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

(전화) 02-880-7481 (팩스) 02-878-1652

를 제모 처리하여 실험동물로써 사용하였다. 2) 천연물 E_x의 분말은 5%, 대조군은 30% 알코올 수용액으로 조제하였다. 3) 제모처리 익일부터 시험물질을 mouse 피부에 도포시키고, 3주간(또는 17일간)동안 시간경과에 따른 모의 성장정도를 hair score 및 모낭 조직학적 관찰을 통하여 검색하였다. 4) 모발 스코어는 털의 복원정도 및 복원면적에 따라, 완전 탈모상태를 "0"으로 하고, 모낭이 완전히 복원된 상태를 "3"으로 하며, 그 사이를 모낭의 길이 및 면적을 측정하여 "0.5" 단위로 세분하여 이를 기준으로 0~3 grade로 판정하였다. 5) 모낭 조직학적 변화 관찰은 피부 생검을 통하여 나타난 변화를 모낭의 길이 및 모 주기상의 상태를 측정하였다. 6) 물질도포에 따른 실험동물에의 이상 유무를 관찰하기 위하여 각 시점에서의 몸무게 변화도 동시에 관찰 기록하였다.

Eua 유도체 합성 - 유제놀 9.38 ml(61 mmole)와 아세틸살리실산 11 g(61 mmole)을 환저플라스크에 넣고, 질소 기체로 치환하여 무수 DMF 약 70 ml로 녹인 후 빙욕상에서 93% diethyl phosphorocyanidate (DEPC) 11.94 ml(73.2 mmole)를 주입하고 99% triethylamine(TEA) 10.31 ml(73.2 mmole)를 적가하여 0°C에서 2시간, 실온에서 24시간 교반하였다. 반응혼합물을 EtOAc로 희석한 후 포화 NaHCO₃, Brine로 세척하고 무수 MgSO₄로 건조한 후 감압농축하였다. EtOAc : n-Hexane(1:4) 혼합용매로 칼럼 크로마토그래피를 행하여 침상 고체인 product를 얻었다 (TLC : EtOAc : n-Hexane=1:4, R_f=0.27).

화합물의 구조 - Eua는 UV, IR 및 MS 등을 측정 한 결과, UV 스펙트럼은 204.4, 226.2, 279.4 nm에서 공액 이중결합의 특징적인 흡수밴드를 나타내며, IR 스펙트럼은 3400 cm⁻¹ 부근의 넓은 OH 피크가 없어지고, 강한 에스테ルの C=O 피크가 고파수쪽으로 shift하여 1746 cm⁻¹ 부근에 나타나며, 그리고 1190 cm⁻¹ 근처에 강한 C-O기의 피크를 관찰할 수 있었고, MS 스펙트럼에서는 분자량 326의 분자이온 피크를 확인할 수 있었다. 또한 ¹H-NMR로부터 2.295~2.299 ppm(s, 3H)에서 acetyl기의 CH peak, 3.392~3.406 ppm(d, 2H)에서 1'CH peak, 3.805 ppm(s, 3H)에서 2번 methoxyl기의 CH peak, 5.094~5.144 ppm(m, 2H)에서 3'CH peak, 5.971~5.985 ppm(m, 1H)에서 2'CH peak, 6.799~6.830 ppm(m, 2H)에서 3, 5CH peak 와 7.034~7.050 ppm(d, 1H)에서 6CH peak, 7.155~7.173(d, 1H)에서 13CH peak, 7.373



Scheme I

~7.388 ppm(t, 1H)에서 12CH peak, 7.605~7.621 ppm(m, 1H)에서 11CH peak, 8.231~8.250 ppm(m, 1H)에서 10CH peak를 확인하였다. 이들 데이터 등으로부터 유제놀의 페놀성 OH와 아스피린의 COOH가 축합하여 분자량이 326(C₁₉H₁₆O₅)인 2-(acetyloxy)benzoyl eugenol(acetylsalicylo eugenol)이 생성됨을 추정할 수 있었다.

C₁₉H₁₆O₅ (mw : 326)

yield : 10%

mp : 67~69°C

R_f : 0.27 (EtOAc : n-Hexane=1:4)

UVλ_{max}^{MeOH} nm : 204.4, 226.2, 279.4

Table I — hair growth score of black mouse(C57BL/6)
n=number of animal(10)

Treatment	Hair growth score (0-3)					
	0	9	11	13	16	18(d)
Eua(2.5%)	0	0.12	0.63	1.13	1.95	2.41
Minoxidil(2%)	0	0.18	0.84	1.46	2.33	2.70
Vehicle(30% alc)	0	0.14	0.42	0.79	1.17	1.67

IRv_{max}^{KBr} cm⁻¹ : 2740, 1746(C=O), 1607, 1510, 1452, 1248, 1190(C-O), 1150, 1124, 1051, 915, 751

MS(EI, m/z, rel. int.) : 326[M]⁺(4.3), 206(1.61), 163(100), 149(8.06), 121(100), 92(11.8), 65(11.8)

¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃, δppm) : 2.295~2.299 ppm(s, 3H, Acetyl CH), 3.392~3.406(d, 2H, 1'CH), 3.805(s, 3H, 2-methoxy CH), 5.094~5.144(m, 2H, 3'CH), 5.971~5.985(m, 1H, 2'CH), 6.799~6.830(m, 2H, 3, 5CH), 7.034~7.050(d, 1H, 6CH), 7.155~7.173(d, 1H, 13CH), 7.373~7.388 (t, 1H, 12CH), 7.605~7.621(m, 1H, 11CH), 8.231~8.250 ppm(m, 1H, 10CH)

성상 및 UV 흡수스펙트럼 - Eua는 mp 67~69°C, 분자식 C₁₈H₁₈O₅(mw : 326)인 침상 고체로서, 1 mg을 용해시키는데 필요한 용매의 ml량은 메탄올, 에탄올, 클로로포름, 디클로로메탄, 아세톤, 에테르 및 에틸아세테이트에는 모두 대략 0.1 ml 이하였으며, 물에는 불용이었다. 그리고 Eua 메탄올용액의 최대흡광파장은 blank를 대조로 하여 측정한 결과 226 nm 근처였으며, 이 메탄올용액을 1일동안 관찰하여도 거의 경시변화가 없었다.

정량법 - 1×10⁻⁴M Eua 메탄올용액 1 ml씩을 10 ml용 용량플라스크에 정확히 취해 여기에 메탄올로 표선을 맞춘 다음 1 cm 셀을 사용하여 최대흡광파장 226 nm에서 각각의 흡광도를 측정하여 이로부터 작성한 검량선 식은 Y=1.8218×10⁴×-0.0641(상관계수 : 0.9998)로서 매우 양호한 직선성을 나타내었다.

Eua의 육모활성 검색 - Eua에 nikkol HCO 60 0.2 g(1%), glyceryl monooleate 0.2 g(0.5%)을 가한 다음 30% 에탄올을 써서 2.5% Eua 시험액을 조제하여 육모시험방법에 준해 효능을 검색하여 그 결과를 Table I에 표시하여 두었다.

결 론

Eua는 mp 67~69°C, 분자식 C₁₉H₁₈O₅(mw : 326)

인 침상 고체로서, 메탄올, 에탄올, 클로로포름, 디클로로메탄, 아세톤, 에테르 및 에틸아세테이트에는 용해되나 물에는 녹지 않는다. 이 화합물의 메탄올용액을 박층 크로마토그래프용 실리카겔을 써서 만든 박층판에 점적하여 전개용매 대략 EtOAc : nexane=1:4를 써서 전개한 결과 Rf=0.27 였다. 또한 흡광광도법을 이용하여 이 물질의 정량법을 확립하였다. Eua의 구조는 IR로부터 3400 cm⁻¹ 부근 유제놀의 OH 피크가 없어지고, 강한 에스테ルの C=O 피크가 고파수쪽으로 shift하여 1746 cm⁻¹ 부근에 나타나며, 1190 cm⁻¹ 근처에 강한 C-O기의 피크가 나타나는 것을 확인할 수 있었고, 또한 ¹H-NMR 등으로부터 얻은 기기분석 데이터로부터 유제놀의 페놀성 OH와 아스피린의 COOH가 축합하여 2-(acetyloxy)benzoyl eugenol(acetylsalicylo eugenol)가 생성됨을 추정할 수 있었다. 그리고 이 물질의 육모시험에 있어서는 양성대조군인 미녹시딜과 비교해서는 조금 활성이 떨어지나 음성대조군보다는 현저한 증가를 나타내어 새로운 육모제로서의 가능성이 기대된다.

감사의 말씀

이 연구는 1996년도 과기처 G7 선도기술개발사업 연구비의 일부로 수행되었으며, 또한 육모활성시험에서 많은 도움을 주신 태평양 중앙연구소 육모팀 여러분에게 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., p. 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 Rumsfield, J. A. : Topical Minoxidil Dose-Response Effect in Alopecia Areata. *Arch. Dermatol.* **122**, 180 (1986).
- 6) De Villez, R. L. : Topical Minoxidil Thearapy 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) Kim, K. S., Shin, J. S., Kang, K. H., Suh, Y-G. and Kim, B-K. : Condensation of salicylic acid with minoxidil. *Yakhak Hoeji* **39**, 511 (1995).
- 9) Shin, J. S., Kang, K. H., Lee, J. W. and Kim, B-K., Effect of piperidinopyrimidine derivative on the blood pressure of rat, *J. Appl. Pharmacol.* **3**, 238-241 (1995).
- 10) Shin, J. S., Kim, K. S., Kang, K. H., Moon, S. J., Lee, W. Y. and Kim, B-K. : Antialopecic effect of piperidinopyrimidine derivative. *J. Pharm. Chem. Bull.* **40**, 340 (1996).
- 11) Shin, J. S. Kim, J. H., Park, J. H., Son, E-D., Park, H-G. and Kim, B-K., Properties and antialopecic effect of eugenol-cinnamic acid derivative. *SNU J. Pharm. Sci.* **21**, 1 (1996).
- 12) National Formulary XV, p315 (1980).
- 13) Hideo Uno, M. D., Beth Schroeder, B. S., Todd Fors, B. S., and Osmu Mori, M. D. : Macaque and Medels for the screening of Drugs for Stimulating Hair Growth. *Journal of Cutaneous Aging & Cosmetic Dermatology* **1**, 193 (1990).