

***N,N'*-Disubstituted Thiourea Derivatives**

의 合成과 抗菌性, 抗人結核性 및 抗腫瘍 試驗에 關한 研究

趙 允 成 · 李 明 杰*

Yun Sung Chough, Myung Gull Rhee: Studies on the Synthesis of
N,N'-Disubstituted Thiourea Derivatives and their Antibacterial,
Antitubercular and Antitumor Activities.

(Received Dec, 31, 1969)

Seventeen *N,N'*-disubstituted thiourea derivatives were synthesized by the Hegershof reaction and reported. Antitumor activities of the synthesized compounds against ascitic Ehrlich Carcinoma and ascitic Sarcoma 180 were reported.

It was found that 1,1'-(*p*-Phenylene)-3,3'-bis (2-carboxyphenyl)-2,2'-dithiourea was considerably active against ascitic Ehrlich Carcinoma and Sarcoma 180 respectively. 1-(2-Carboxyphenyl)-3-(*p*-ethoxyphenyl)-2-thiourea was active against ascitic Sarcoma 180. 1-Salicyloyl-3-(*p*-ethoxyphenyl)-2-thiourea and 1,1'-(*p*-Phenylene)-3,3'-bis(2-hydroxyethyl)-2,2'-dithiourea were active against ascitic Ehrlich Carcinoma. Antitubercular activities of the synthesized compounds against Mycobacterium tuberculosis H₃₇ Rv were also reported. It was found that I-Isonicotinyl-4-cyclohexyl-3-thiosemicarbazide was considerably active at 100 µg/ml. 1,1'-(*p*-Phenylene)-3,3'-bis(2-hydroxyethyl)-2,2'-dithiourea and 1-Salicyloyl-3-(*p*-ethoxyphenyl)-2-thiourea were active at 1000µg/ml respectively.

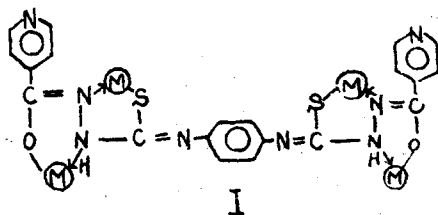
Antibacterial activities of nine compounds of the synthesized compounds against *S. aureus* and *E. Coli* were reported. It was found that 1,1-(*p*-Phenylene)-4,4'-bis(isonicotinyl)-2,2'-dithiosemicarbazide and 1-Isonicotinyl-4-cyclohexyl-3-thiosemicarbazide were considerably active against *S.aureus* and *E.Coli* respectively. 1-(6-Methyl-2-benzothiazolyl)-3-(1-naphthyl)-2-thiourea was active against *S. aureus*. 1,1'-(*p*-Phenylene)-3,3'-bis (2-hydroxyethyl)-2,2'-dithiourea was active against *E.Coli*.

* College of Pharmacy, Seoul National University.

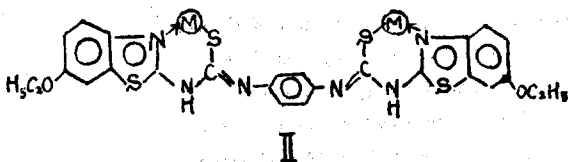
緒 論

Doub,¹⁾ Huebner,²⁾ Mayer,³⁾ Buu-Hoi,⁴⁾ Youman⁵⁾ 및 Quyen⁶⁾ 등은 Thiourea 유도체들이 항 결핵성 및 항균성 작용이 있음을 보고하였다. Cuong⁷⁾은 Thiourea 유도체중에 Halogen 원자를 치환시킨 化合物에도 항 결핵성 및 항균성이 있음을 보고 하였다.

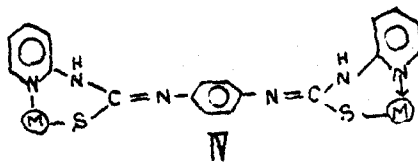
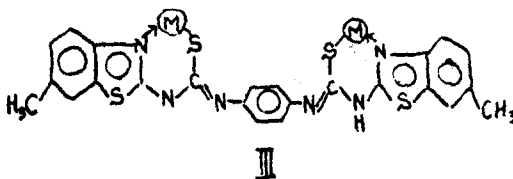
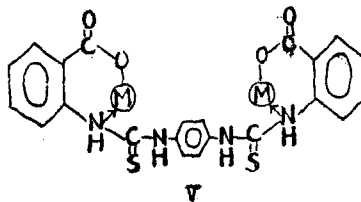
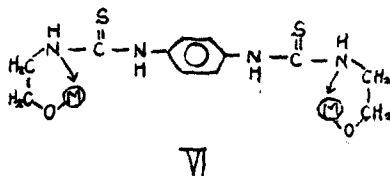
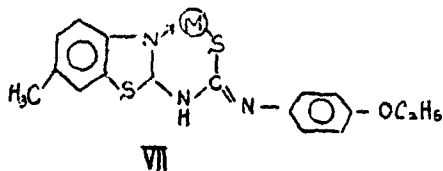
Dought⁸⁾ 등은 異種環狀化合物이 Thiourea 에 結合되어 있는 化合物이 또한 항결핵성 및 항균성작용을 나타내고 있음을 보고 했다. Domagh⁹⁾는 Thiosemicarbazone 유도체가 Antitumor activity를 나타냄을 보고 했으며, Dunn, Actor, Dipasquo¹⁰⁾, Freedlander¹¹⁾, Toda, Tokunaga¹²⁾, Logeman, Coppi¹³⁾ 등은 Benzothiazole 유도체가 강력한 항 결핵성, 항균성 작용을 發現함을 보고 했다. Wilkinson¹⁴⁾ 등은 dextro-2,2'-(Ethylenediimino)-di-1-butanol이 항결핵성 작용이 있고, 이 藥効作用기구가 이 化合物의 chelate 化能 때문이라고 가정 했고, Furst¹⁵⁾는 항암성 化合物의 작용을 chelate 化能과 결부시킨 가설을 설정하였다. 이와같이 몇몇 化學療法劑의 機能原子團과 藥理作用간의 상관관계에 주목하고, 또한 chelate 化能과 항결핵성 및 항암성 작용간에 밀접한 관계가 있다는 報告에 주목하여 著者は Isonicotinyl hydrazine, Benzothiazole, *p*-Phenylenediamine, Ethylenediamine 등을 함유하며, chelate 化能에 있는 Thiourea 계통의 新化合物 17 種을 合成하고 Löwenstein medium에서 *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇ Rv 에 對한 in vitro 항결핵 시험과 ascitic Ehrlich Carcinoma 와 ascitic Sarcoma 180 에 대한 in vivo 항종양시험을 수행하였으며 이 중 9 種 化合物에 對해서는 *S. aureus* 및 *E. Coli* 에 對한 in vitro phenol coefficients를 측정하였으므로 이 結果를 報告코지 한다. 이들 17 種 化合物의 Chelation mechanism은 아래와 같다. (Table 1)

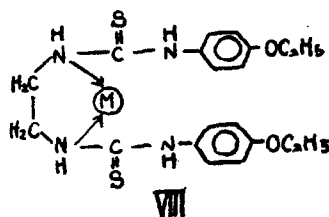


I) 1,1'-(*p*-Phenylene)-4,4'-bis (isonicotinyl)-2,2'- dithiosemicarbazide

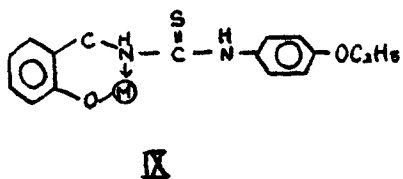


II) 1,1'-(*p*-Phenylene) -3,3'-bis (6-ethoxy-2-benzothiazolyl)-2,2'-dithiourea

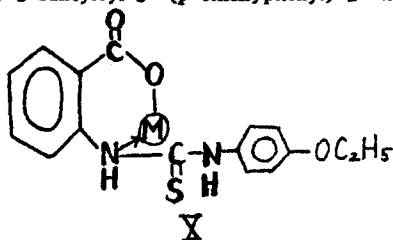
III) 1,1'-(*p*-phenylene)-3,3'-bis(2-pyridyl)-2,2'-dithioureaIV) 1,1'-(*p*-Phenylene)-3,3'-bis(6-methyl-2-benzothiazolyl)-2,2'-dithioureaV) 1,1'-(*p*-Phenylene)-3,3'-bis(2-carboxyphenyl)-2,2'-dithioureaVI) 1,1'-(*p*-Phenylene)-3,3' bis(2-hydroxyethyl)-2,2'-dithioureaVII) 1-(6-Methyl-2-benzothiazolyl)-3-(*p*-ethoxyphenyl)-2-thiourea



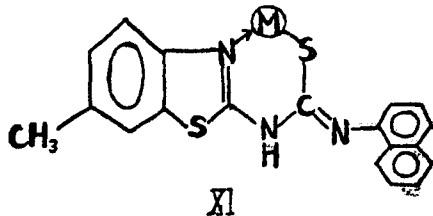
VIII) 1,1'-Ethylene-3,3'-bis (*p*-ethoxyphenyl) -2,2'-dithiourea



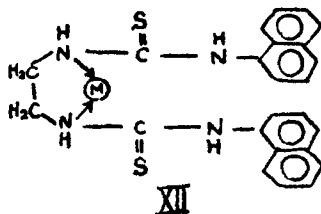
IX) 1-Salicyloyl-3- (*p*-ethoxyphenyl)-2 -thiourea



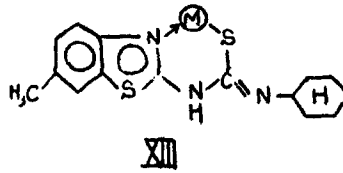
X) 1-(2-Carboxyphenyl)-3- (*p*-ethoxyphenyl)-2-thiourea



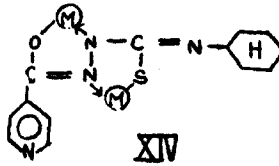
XI) 1-(6-Methyl-2-benzothiazolyl)-3- (1-naphthyl)-2-thiourea



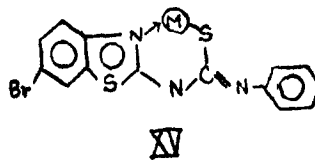
XII) 1,1'-Ethylene-3,3'-bis (1-naphthyl)-2,2'-dithiourea



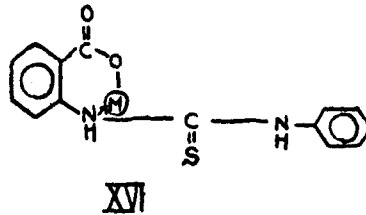
XIII) 1-(6-Methyl-2-benzothiazolyl)-3- cyclohexyl-2 thiourea



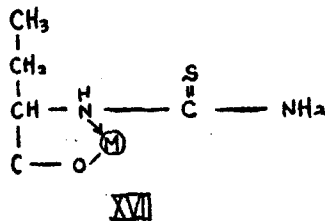
XIV) 1-Isonicotinyl-4- cyclohexyl-3- thiosemicarbazide.



XV) 1-(6-Bromo-2-benzothiazolyl)-3-phenyl-2-thiourea



XVI) 1-(2-Carboxyphenyl)-3- phenyl-2-thiourea.



XVII) 2-Thioleido-butyrac acid

實 驗 之 部

I. 합 成

1, 1'-(*p*-Phenylene)-4, 4'-bis(isonicotinyl)-2, 2'-dithiosemicarbazide(I): isonicotinyldiazine 1.38g (0.01M)과 *p*-phenylenediisothiocyanate 0.96g (0.005M)을 methylethylketone 20ml 에 녹여 sealed tube 에 넣고 수욕상에서 3시간 반응한 후 생성한 침전을 여과한 후 methylethylketone 및 ether 로 세척하고 물과 N,N-dimethylformamide 의 혼합용매로 재결정한다. 황색침전 yield 85%. m.p. 196~7° (dec) Anal. Calcd. for $C_{20}H_{18}N_8O_2S_2$: N, 5.98%. Found: N, 5.98%

1. 1'-(*p*-Phenylene)-3, 3'-bis(6-ethoxy-2-benzothiazolyl)-2, 2'-dithiourea (II): 2-amino-6-ethoxy-benzothiazole 1.94g (0.01M)과 *p*-phenylenediisothiocyanate 0.96g (0.005M)을 acetone 30ml 에 녹이고 sealed tube 에 넣어 수욕상에서 8시간 반응하여 생성한 침전을 여과하고 acetone 및 ether 로 세척한 후 물과 N,N-dimethylformamide 의 혼합용매로 재결정한다. 회황색 침전. yield 48%. m.p. 222~3° (dec)

Anal. Calcd. for $C_{26}H_{24}N_6O_2S_4$: N, 14.48%; Found: N, 14.52%.

1, 1'-(*p*-Phenylene)-3, 3'-bis(6-methyl-2-benzothiazolyl)-2, 2'-dithiourea (III): 2-amino-6-methyl-benzothiazole 1.64g (0.01M)과 *p*-phenylenediisothiocyanate 0.96g (0.005M)을 acetone 20ml 에 녹이고 sealed tube 에 넣어 수욕상에서 10시간 반응한다. 생성한 침전을 여과한 후 acetone 과 ether 로 세척하고 물과 N,N-dimethylformamide 로 재결정한다. 황색침전 yield 58%. m.p. 235~6° (dec). Anal. Calcd. for $C_{24}H_{20}N_6S_4$: N, 16.15%; Found: N, 15.60%.

1, 1'-(*p*-Phenylene)-3, 3'-bis(2-pyridyl)-2, 2'-dithiourea (IV): 2-aminopyridine 0.92g (0.01M)과 *p*-phenylenediisothiocyanate 0.96g (0.005M)을 benzene 30ml 에 녹이고 수욕상에서 2시간 환류한다. 생성된 침전을 여과한 후 benzene 과 ether 로 세척하고 물과 N,N-dimethylformamide 의 혼합용매로 재결정한다. 백색결정. yield 59%. m.p. 225~6° (dec). Anal. Calcd. for $C_{18}H_{16}N_6S_2$: N, 14.74%; Found: N, 14.81%.

1, 1'-(*p*-Phenylene)-3, 3'-bis(2-carboxyphenyl)-2, 2'-dithiourea (V): 0-aminobenzoic acid 1.76g (0.0133M)과 *p*-phenylenediisothiocyanate 1.28g (0.0066M)을 acetone 15ml 에 녹여 sealed tube 에 넣고 water bath 상에서 1시간 반응시킨다. 생성된 침전을 여과한 후 acetone 과 ether 로 세척하고 물과 N,N-dimethylformamide 의 혼합용매로 재결정한다.

백색침전. yield 67% m.p. 360° 이상. Anal. Calcd. for $C_{22}H_{18}N_4O_4S_2$: N, 12.02%; Found: N, 11.93%.

1, 1'-(*p*-Phenylene)-3, 3'-bis(2-hydroxyethyl)-2, 2'-dithiourea (VI): monoethanolamine 1.22g(0.02M)을 acetone 10ml 에 녹이고, 여기에 *p*-phenylenediisothiocyanate 1.92(0.01M)을 acetone 10ml 에 녹인 용액을 실온에서 가하면 침전이 생성한다. 수욕상에서 5분간 환류한 후 침전을 여과하고 acetone 과 ether 로 세척한 후 물과 N,N-dimethylformamide 의 혼합용매로 재결정한다.

백색침전. yield 61%. m.p. 183~4. Anal. Calcd. for $C_{12}H_{18}N_4O_2S_2$: N, 17.82%; Found: N,

18.28%

1-(Methyl-2-benzothiazolyl)-3-(*p*-ethoxyphenyl)-2-thiourea(VII): 2-amino-6-methylbenzothiazole 0.82g(0.005M)와 *p*-ethoxyphenylisothiocyanate 0.89g(0.005M)을 acetone 10ml에 녹이고 sealed tube에 넣어 수욕상에서 5시간 반응한다. 생성된 침전을 여과한후 acetone과 ether로 세척하고 물과 N,N-dimethylformamide의 혼합용매로 재결정한다. 황색침상결정.

yield 47%. m.p. 195~6° (dec). Anal. Calcd. for $C_{17}H_{17}N_3OS_2$: N, 12.24%; Found: N, 12.00%.

1,1-Ethylene-3,3'-bis(*p*-ethoxyphenyl)-2,2'-dithiourea(VIII): *p*-ethoxyphenylisothiocyanate 2.7g(0.015M)을 acetone 10ml에 녹이고 여기에 ethylenediamine 0.45g(0.075M)을 acetone 10ml에 녹인용액을 실온에서 한방울씩 가한다. 생성된 침전을 여과한 후 methanol로 재결정.

백색침전. yield 97%. m.p. 198.5~9. Anal. Calcd. for $C_{20}H_{22}N_4O_2S_2$: N, 13.39%; Found: N, 13.00%

1-Salicyloyl-3-(*p*-ethoxyphenyl)-2-thiourea(IX): *o*-salicylamide 1.37g(0.01M)과 *p*-ethoxyphenylisothiocyanate 1.79g(0.01M)을 acetone 15ml에 녹여 sealed tube에 넣고 수욕상에서 50시간 반응한다. acetone을 1/2 제거하여 생성된 침전을 여과한 후 ether로 세척하고 methanol로 재결정한다.

백색침전. yield 33%. m.p. 168~9. Anal. Calcd. for $C_{16}H_{16}N_2O_3S$: N, 8.86%; Found: N, 8.68%

1-(2-Carboxyphenyl)-2-(*p*-ethoxyphenyl)-2-thiourea(X): *o*-aminobenzoic acid 1.37g(0.01M)과 *p*-ethoxyphenylisothiocyanate 1.79g(0.01M)을 acetone 10ml에 녹여 sealed tube에 넣고 수욕상에서 1시간 반응한다. 생성된 침전을 여과한후 acetone과 ether로 씻고 물과 N,N-dimethylformamide의 혼합용매로 재결정한다.

백색침전. yield 35%. m.p. 337~8° (dec). Anal. Calcd. for $C_{16}H_{16}N_2O_3S$: N, 8.86%; Found: N, 8.44%

1-(6-Methyl-2-benzothiazolthyl)-3-(1-naphthyl)-2-thiourea(XI): 2-amino-6-methylbenzothiazole 1.64g(0.01M)과 α -naphthylisothiocyanate 1.85g(0.01M)을 acetone 10ml에 녹여 sealed tube에 넣고 수욕상에서 3시간 반응한다. 생성된 침전을 여과한후 acetone과 ether로 세척하고 물과 N,N-dimethylformamide의 혼합용매로 재결정.

백색결정. yield. 63% m.p. 200~1°. Anal. Calcd. for $C_{19}H_{15}N_3S_2$: N, 12.03%; Found: N, 12.22%

1,1'-Ethylene-3,3'-bis(1-naphthyl)-2,2'-dithiourea(XII): α -naphthylisothiocyanate 1.85g(0.01M)을 benzene 80ml에 녹이고 여기에 실온에서 ethylenediamine 0.3g(0.005M)을 한방울씩 가해 준다. 생성된 침전을 acetone과 ether로 세척하고 물과 N,N-dimethylformamide의 혼합용매로 재결정

백색침상결정. yield 94%. m.p. 171~2°(dec) Anal. Calcd. for $C_{24}H_{22}N_4S_2$: N, 13.02%; Found: N, 12.92%

1-(6-Methyl-2-benzothiazolyl)-3-cyclohexyl-2-thiourea(XIII): cyclohexylisothiocyanate 1.4

1g(0.01M)과 2-amino-6-methylbenzothiazole 1.64g (0.01M)을 acetone 10ml에 녹이고 sealed tube에 넣고 수욕중에서 37시간 반응한다. 생성된 침전을 acetone과 ether로 세척하고 ethanol로 재결정.

백색침전. yield 23%. m.p. 218~9°(dec). Anal. Calcd. for $C_{15}H_{19}N_2S_2$: N, 13.77%; Found: N, 13.58%

1-Isonicotinyl-4-cyclohexyl-3-thiosemicarbazide(XIII): cyclohexylisothiocyanate 1.41g (0.01 M)과 Isonicotinyl hydrazine 1.35g(0.01M)을 methylethylketone 20ml에 녹이고 sealed tube에 넣고 수욕중에서 2시간 반응한다. 생성된 침전을 methylethylketone과 ether로 세척하고 ethanol로 재결정한다.

백색침전. yield 58%. m.p. 205~6°(dec). Anal. Calcd. for $C_{13}H_{18}N_4OS$: N, 5.07%; Found: N, 5.32%

1-(6-Bromo-2-benzothiazolyl)-3-phenyl-2-thiourea(XV): 2-amino-6-bromobenzothiazole 2.29g(0.01M)과 phenylisothiocyanate 1.35g (0.01M)을 acetone 50ml에 녹여 sealed tube에 넣

Table. II

Comp. No.	Recryst. Solvent	m.p. (C.)	Appearance.	Yield. (%)	Formula.	Analysis. N(%)	
						Calcd	Found
I	DMF+H ₂ O	196~7. (dec)	yellowish powder	85	$C_{20}H_{19}N_6O_2S_2$	5.98	5.98
II	"	222~3. (dec)	"	48	$C_{28}H_{24}N_6O_2S_4$	14.48	14.52
III	"	235~6. (dec)	"	58	$C_{24}H_{20}N_6S_4$	16.15	15.60
IV	"	225~6. (dec)	white powder	59	$C_{18}H_{18}N_6S_2$	14.74	14.81
V	"	360>	"	67	$C_{22}H_{18}N_6O_2S_2$	12.02	11.93
VI	"	183~4.	"	61	$C_{12}H_{18}N_4O_2S_2$	17.82	18.28
VII	"	195~6. (dec)	yellowish needle crystal	47	$C_{17}H_{17}N_2OS_2$	12.24	12.00
VIII	Methanol	198.5~9.	white powder	97	$C_{20}H_{20}N_4O_2S_2$	13.39	13.00
IX	"	168~9.	"	33	$C_{16}H_{16}N_2O_2S$	8.86	8.68
X	DMF+H ₂ O	337~8. (dec)	"	35	$C_{16}H_{16}N_2O_2S$	8.86	8.44
XI	"	200~1.	"	63	$C_{16}H_{16}N_2S_2$	12.03	12.22
XII	"	171~2. (dec)	white needle crystal.	94	$C_{24}H_{22}N_6S_2$	13.02	12.92
XIII	Ethanol	218~9. (dec)	white powder.	23	$C_{15}H_{19}N_2S_2$	13.77	13.58
XIV	"	205~6. (dec)	"	58	$C_{13}H_{18}N_4OS$	5.07	5.32
XV	DMF+H ₂ O	198~9.	yellowish powder	67	$C_{14}H_{16}N_2S_2Br$	11.53	11.78
XVI	DMF+Ethanol	319~20	white powder	65	$C_{14}H_{18}N_2O_2S$	10.29	10.30
XVII	H ₂ O	197~8.	"	74	$C_8H_{10}N_2O_2S$	17.2	16.7

고 수욕중에서 16시간 반응한다. 생성된 침전을 acetone과 ether로 세척하고 몰과 N,N-dimethylformamide의 혼합용매로 재결정한다.

황색침전. yield 67%. m.p. 198~9. Anal. Calcd. for $C_{14}H_{10}N_2S_2Br$: N, 11.53%. Found: N, 11.78%.

1-(2-Carboxyphenyl)-3-phenyl-2-thiourea(XVI): o-aminobenzoic acid 1.37g (0.01M)과 phenylisothiocyanate 1.35g (0.01M)을 acetone 10ml에 녹여 sealed tube에 넣고 수욕중에서

1시간 반응한다. 생성된 침전을 여과한후 ether 로 세척하고 ethanol 과 N,N-dimethylformamide 의 혼합용매로 재결정 한다.

백색침전. yield 65%. m.p. 319~20°. Anal. Calcd. for $C_{14}H_{12}N_2O_2S$: N, 10.29% Found: N, 10.30%

2-Thioureido-butyric acid(XVII): α -bromobutyric acid 14g(0.083M)과 thiourea 12g(0.166M)을 acetone 100ml 에 녹이고 수욕중에서 1시간 환류한다. 생성된 침전을 물에 녹이고 NaHCO₃ 로 中和해서 생성된 침전을 물에서 재결정한다.

백색침전. yield 74%. m.p. 197-8°. Anal Calcd. for $C_5H_{10}N_2O_2S$: N, 17.2%; Found: N, 16.7%

이상 17種 化合物에 對한 m.p., 재결정용매, 성상, yield. formula, 元素分析등을 나타내면 Table II 와 같다.

II. 抗人結核試驗^{16), 17), 18)}

a) 菌種

Mycobacterium tuberculosis H₃₇Rv

b) 培地

Löwenstein medium

Table III. Antitubercular Activity of Synthesized Compounds against *M. tuberculosis* H₃₇ RV.

comp.No.	$\mu\text{g/ml}$	1	10	100	1000
I		###	###	##	+
II		###	###	###	##
III		###	###	###	##
IV		###	###	###	##
V		###	###	###	+
VI		###	###	###	○
VII		###	###	###	##
VIII		###	###	###	+
IX		###	###	++	○
X		###	###	###	##
XI		###	###	###	##
XII		###	###	###	##
XIII		###	###	###	##
XIV		###	+	○	○
XV		###	###	###	##
XVI		###	###	###	##
XVII		###	###	###	+
INAH		○	○	○	○
Control		###	###	###	##

: Full growth ○ : No growth

e) 試驗회석

Table I의 17종 화합물 및 Isonicotinylhydrazine 을 $1\mu\text{g/ml}$, $10\mu\text{g/ml}$, $100\mu\text{g/ml}$, $1000\mu\text{g/ml}$ 되도록 회석하였다.

d) 조작

Table I의 17종 화합물 및 Isonicotinyl hydrazine 을 각각 회석하여 ml 당 $1\mu\text{g}$, $10\mu\text{g}$, $100\mu\text{g}$, $1000\mu\text{g}$ 이 함유되도록 만든 Löwenstein medium 에 Mycobacterium tuberculosis H₃₇Rv 를 접종하여 37°C에서 60일간 배양했다.

e) 결과

Table III 과 같다.

II. 抗腫瘍試驗

a) 試料

Table I에 표시된 17종 化合物. 이들 試料를 Dimethylsulfoxide(DMSO)와 생리식염수(1:3)에 현탁시킴. 현탁액 0.5ml 중에 각시료 2mg 이 함유되도록 하였다.

b) 動物

CMW系 건강 Mouse (♀. 體重 20g 전후)를 사용하였다.

Table IV Survival Duration of transplanted mice caused by the Administration of Synthesized Comp.

comp. No.	Tumors	Ehrlich	Sarcoma
I		+	++
II		##	##
III		++	++
IV		++	++
V		++##	##
VI		##	##
VII		++	+
VIII		++	##
IX		##	+
X		++	##
XI		++	++
XII		++	##
XIII		+	##
XIV		++	##
XV		+	+
XVI		++	++
XVII		++	##
Control		++	++

+ : 1~10 day ++ : 11~15 days ## : 16~20 days ### : 21~25 days

++## : 26~30 days ### : more than thirty days

c) 腫瘍

Ascitic Ehrlich Carcinoma (Ehrlich), Ascitic Sarcoma 180 (S-180).

d) 腹水性 腫瘍의 生成

Ehrlich, S-180 등을 각각 세포수 10^6 個式(Hemocytometer 로 計測한 결과, 1 週日期腹水 約 0.1ml 에 해당)을 복강내에 이식한 후, 7~9 日만에 繼代하였다.

e) 腹水性腫瘍에 對한 投腫瘍試驗¹⁹⁾

Ehrlich, S-180 등을 각각 腹腔內에 이식한 후 24 時間부터 試料 2mg 씩을 1日 1回 연속 7 日間 腹腔內에 주사하여 延命效果를 관찰하였다. (一群 最小 5匹, 最大 10匹)

f) 腹水性 腫瘍에 對한 效果^{20) 21)}

生存日數가 對照群의 2 배인것을 有效로 判定하였다.

g) 結果

Table IV 에 표시한다

V. 抗菌試驗

(a) 菌種

Staphylococcus aureus

E. Coli

b) 培地

Beef ex 5g, Peptone 5g, 식염 10g, 증류수 1000ml 를 넣어 加熱용해시켜 여과한뒤 pH 6.8 로 조절하고 시험관에 10ml 씩 주입시켜 121°에서 20分 멸균한다.

(c) 試料 희석

m.p.40° 以上の 순수한 phenol 을 써서 정확히 5.0% 수용액을 만들고 마개를 하여 암소에 보존한다. 쓸때마다 멸균증류수로 적당한 희석액을 만들어 쓴다.

Table I 에 나타난 17種 化合物中에서 9種化合物을 5.0w/v% 원액을 만들고 이로부터 임의의 희석액을 멸균증류수로 만든다.

(d) 作用온도

$20 \pm 5^\circ$

(e) 作用時間과 移殖時間

2.5分, 5分, 10分, 15分으로 하였다. 이식하는 간격은 15초로 하였다.

(f) 移殖用 백금耳

두께 0.6mm, 내경 4mm.

(g) 培養時間

37° 48 시간

(h) 試驗法

9種化合物과 phenol 의 各 희석액을 멸균시험관에 정확히 10ml 를 가하고 20° 의 온탕에 넣는다. 시험菌 부이온도 넣는다. 시험菌 배양액 1ml 를 第一作用 시험관에 菌液이 관벽에 묻지않게 조심하면서 한번에 加하고 잘 진탕한다.

諸시험관에 菌液을 넣은뒤 15초가 지났을 때 第二作用 시험관에 먼저와 같이 菌液 1ml 를 넣는다. 그 다음 순서대로 하면 2分 15초로 菌液을 전부넣을 수 있다.

第一시험관에 菌液을 넣은 순간부터 정확히 2.5分이 되면 멸균 백금耳로 第一作用 시험관으로 부터 1 백금耳를 취하고 배양용의 부이온에 이식한다. 똑 같이 15초 간격으로 제2, 제3 作用 시험관으로 부터 1 백금耳씩을 부이온에 옮긴다. 作用 時間 2.5分이 끝나면 同一하게 5.10.15 分後의 배양을 시행한다.

(i) phenol coefficients 의 계산법

作用時間 5分에서 菌이 사멸하지 않고 10分作用했을 때 확실히 사멸하는 9種 化合物의 최대희석배 수와 그것과 똑 같은 結果를 나타내는 phenol 의 최대희석배수와의 비를 케늘 계 수라 한다.

(j) 結果

phenol coefficients 로 表示한 抗菌作用은 Table I II 와 같다.

Table. Phenol Coefficients

comp. No.	microorganism	Sta. aureus	E. coli
I		18.8	71
II		2.5	7
V		5	7
VI		7.5	57
IX		5	14
XI		31.5	7
XIV		31.5	71
XVI		2.5	4.3
XVII		13.7	30

考 察

1. Table I 에 나타난 17種 化合物은 新物質이며 비대칭 물질이므로 Arylisothiocyanate 를 먼저 合成해서 Hegershof 반응에 의해서 合成하였으며 sealed tube 에 넣지 않고 80시간 reflux 시켜도 반응하지 않았으므로 sealed tube 에 넣어 加壓下에서 合成하였다.

2. 腹水性 腫瘍 (Ehrlich, S-180)의 生成에 있어서 移殖한 Mouse 의 腹水量은 7~9日에 最高(10 cells/ml, ascites)이고 13~15日에 大部分의 mouse 가 死亡 하였다.

3. Isonicotinylhydrazine, monoethanolomine 이 붙은 thiourea 계통 化合物이 抗人結核作用을 나타내었다.

4. *o*-carboxyaniline 이 붙은 thiourea 계통 化合物이 Ehrlich. S-180 에 대해 強한 Antitumor action 을 나타내었으며 monoethanolamine 이 붙은 thiourea 계통의 化合物도 Ehrlich, S-180 에 대해 強한 Antitumor action 을 나타내었다.

5. Isonicotinylhydrazine 이 붙은 thiourea 계통 化合物이 Sta. aureus, E. coli 에 대해 強한 抗菌作用을 나타내었으며 monoethanolamine 이 붙은 thiourea 계통 化合物도 E. coli 에 대해

強한 抗菌作用을 나타내었다.

6. Monoethanolamine 이 붙은 thiourea 계통 化合物은 抗菌作用, 抗人結核作用, 抗腫瘍作用을 나타내었으며, Isonicotinylhydrazine 이 붙은 thiourea 계통 化合物은 抗菌作用, 抗人結核作用을 나타내었으며, Salicylamide 가 붙은 thiourea 계통 化合物이 抗入結核作用, 抗腫瘍作用을 나타내었다.

結 論

1. I-Isonicotinyl-4- cyclohexyl-3- thiosemicarbazide 는 *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv 에 대해서 100 μ g/ml 에서 현저한 菌發育억제 作用을 나타내었으며 1,1-(*p*-Phenylene)-3,3'-bis (2-hydroxyethyl)-2,2'-dithiourea 및 1-Salicyloyl-3- (*p*-ethoxyphenyl)-2-thiourea 는 1000 μ g/ml 에서 현저한 菌發育 억제 作用을 나타내었으며 1,1'-(*p*-Phenylene)-4,4'-bis(isonicotinyl)-2,2'- dithiosemicarbazide 및 1,1'-(*p*-Phenylene)-3,3'-bis(2-carboxyphenyl)-2,2'- dithiourea 및 1,1'-Ethylene-3,3'-bis(*p*-ethoxyphenyl) -2,2'-dithiourea 및 2-Thioureido-butyric acid 는 1000 μ g/ml 에서 菌發育 억제作用을 나타내었다.

2. 1,1'-(*p*-Phenylene)-3,3'-bis (2-carboxy phenyl)-2,2'-dithiourea 는 Ehrlich 와 S-180 에 대해서 強한 Antitumor action 을 나타내었으며 1-(2-Carboxyphenyl)-3- (*p*-ethoxyphenyl)-2-thiourea 는 S-180 에 대해서 強한 Antitumor action 을 나타내었으며 1-Salicyloyl-3-(*p*-ethoxy phenyl) -2-thiourea 및 1,1'-(*p*-Phenylene) -3,3'-bis(2-hydroxyethyl) -2,2'-dithiourea 는 Ehrlich 에 대해서 Antitumor action 을 나타내었다.

3. 1,1'-(*p*-Phenylene)-4,4'-bis (isonicotinyl) -2,2'-dithiosemicarbazide 및 1-isonicotinyl-4-cyclohexyl-3-thiosemicarbazide 는 *Sta. aureus* 와 *E. coli* 에 대해서 強한 殺菌作用을 나타내었으며 1-(6-Methyl-2-benzothiazolyl) -3-(1-naphthyl)-2-thiourea 는 *Sta. aureus* 에 대해서 強한 殺菌作用을 나타내었으며 1,1'-(*p*-Phenylene)-3,3'-bis (2-hydroxyethyl)-2,2'-dithiourea 및 2-Thioureido-butyric acid 는 *E. coli* 에 대해서 強한 殺菌作用을 나타내었다.

끝으로 本 研究를 遂行함에 있어서 抗人結核試驗을 도와주신 서울大學病院 中央檢査室 細菌部の 石鍾聲씨와 腫瘍을 제공하여 주신 서울大學校 藥學大學 鄭源根 博士 및 腫瘍移殖에 협조해 주신 서울大學校 藥學大學 藥化學 教室 干文字 碩士, 合成을 도와주신 서울大學校 藥學大學 藥効學室員 및 玄永祐, 張仁洙등에게 감사를 드리는 바이다.

文 獻

- 1) L. Doub, et al.; *J. Am. Chem. Soc.*, 2205 (1958)
- 2) C.F. Huebner, et al.; *J. Am. Chem. Soc.*, 2274 (1953)
- 3) R.L. Mayer, et al.; *Proc. Soc. Exptl. Biol.*, 769(1953)
- 4) N.P. Buu-Hoi, et al.; *Compt. rend.*, 498 (153)
- 5) G.P. Youmans, et al.; *Am. Rev. tuberc.*, 203(1953)
- 6) C.K. Quyen, et al.; *Bull. Acad. Natl. Med.*, 535(1960)
- 7) D.G. Cuong, et al.; *J. Med. Chem.*, 452 (1963)

- 8) Arthur C. Glasser, and Richard M. Doughty; *J. Pharm. Sci.*, 1031 (1962) *J. Med. Chem.*, 351 (1966)
- 9) G. Domagh; *Am. Rev. Tuberc* 8 (1950)
- 10) G.L. Dunn, P. Actor, and V.J. Diasquo; *J. Med. Chem.*, 751 (1966)
- 11) B.L. Freedlander, and F.A. French; *Prec. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 362 (1947)
- 12) Tadao Toda, and Toru Tokunaga; "*Chemotherapy*" (Tokyo), 332 (1959)
- 13) W. Logemann, S. Galimberti, G. Tosolini, I. De Carneri, and G. Coppi; *Ed. Sci.*, 795 (1961)
- 14) R.G. Wilkinson, R.G. Shepherd, J.P. Thomas, and C. Baughn; *J. Am. Chem. Soc.* 2212 (1961)
- 15) Arthur Furst, *Chemistry of "Chelation in Cancer"* C.C. Thomas Publ. (1963)
- 16) *J. of Bact.*, 11 (1948)
- 17) *J. of Bact.*, 253 (1948)
- 18) *U.S. Public Health Rep.*; 1305 (1948)
- 19) 新井等, 日藥誌, 88, 56 (1968)
- 20) 吉田等, "石館守三 닷 그 協力者 報文集" p.597~605.
- 21) M. Strandtmann et al.; *J. Med. Chem.* 1065 (1967)