

## Methampicillin Lysinate의 合成 및 抗菌作用

金 鍾 甲 李 淑 卿

中央大學校 藥學大學 京畿看護專門學校

(Received April 7, 1977)

Johng Kap Kim (*College of Pharmacy, Chung-ang University, Seoul 151*) and Sook Kyung Lee (*Gyeonggi Jr. College of Nursing, Incheon 160*): Synthesis and Antimicrobial Activity of Methampicillin Lysinate

**Abstract**—Since ampicillin, one of the important semi-synthetic derivatives of penicillins, is restricted in use because of its unfavorable physico-chemical and pharmacological properties, the author synthesized a new derivative, methampicillin lysinate and its physical and characteristics were determined. The antibacterial activity of this compound against ten species of Gram positive and negative bacteria *in vitro* showed that it was more active to Gram negative bacteria than the positive and that was three times more potent than ampicillin trihydrate.

6-amino penicillanic acid(6-APA)는 penicillin系 抗生物質의 acyl基가 遊離될때 共通되는 基本核인을 Demain이 發見하였으며 여기에 여러가지 置換基를 結合한 半合成群은 現在 抗生劑로서 醫藥品에서 重要な 位置를 차지하고는 있으나 여러가지 副作用<sup>1,2</sup> 및 그 長期使用에서 오는 耐性菌의 出現<sup>3</sup>, 그리고 cross reaction<sup>4</sup>의 發生等 臨床的 應用에서 많은 問題點이 대두되었다.

이러한 見地에서 耐性菌이 分泌하는 penicillinase에 對하여 抵抗性이 있으며 安定性, 安全性이 높으며 抗菌力이 強하고 低毒性인 새로운 誘導體를 開發할 目的으로 이 6-APA에 여러가지 置換基를 化學的으로 結合시킴으로서 半合成 誘導體인 D-(—)-6-2'-N'-(L-5-amino-5-carboxyl pentyl amino methyl)-amino-2'-pentyl acetamino-3,3-dimethyl-2-carboxylic acid를 合成하여 methampicillin lysinate라 命名하였으며 理化學的 性質 및 抗菌作用이 ampicillin trihydrate보다 더 強力함을 實證하는 結果를 얻었기에 보고 하고자 한다.

### 實 驗

**Methampicillin lysinate의 合成**—L- $\alpha$ -(N-methylene amino) phenylacetic acid 30 g을 acetone 500 ml에 溶解하여 水冷下에서 ethylchloro carbonate 19 ml를 교반하면서 滴下하였다. 注加後 5분동안 放置하고 D-(—)-6 APA 43g에 3% sodium bicarbonate液 1700 ml를 같은 條件下에

서 서서히 滴下하여 反應을 完結시켰다. 이 反應液에 37% formaldehyde 10.8ml와 L-lysine을 28.14g 加하고 이 첨가반응이 끝난다음 混合溶液을 0°以下에서 계속 교반하면서 1時間 放置한後 ether로 세척하여 水中에서 白色粉末을 얻었다(56.4g).

물에는 잘 녹고(260 mg/ml, 20°), acetic acid에는 약간 녹으나(25 mg/ml, 20°), dimethylformamide에는 잘 녹지 않으며(8 mg/ml, 20°), acetone, chloroform 및 ethyl alcohol(95%)에는 녹지 않는다. pH는 0.25 w/v%溶液에서 2.5~3.0( $\alpha$ )<sup>20</sup><sub>5</sub>—240(C=0.25 in H<sub>2</sub>O), mp(decomp.) 197~198°, 水分含量 9.63 w/w%, anhydridin反應 陽性 sulfur檢定<sup>67</sup>; 金屬 Na와 熔融한 다음 물에 溶解시켜 초산납[(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>Pb]과 作用, 黑色의 黃化鉛을 얻음으로서 thioazabicyclo中 硫黃의 存在 推定, L-lysine의 鑑定: 6-N-HCl로 加水分解시키고 TLC의 Rf値는 0.71로서 30분 走과 同一함. Anal. (by micro Kjeldahl method) Calcd. for C<sub>33</sub>H<sub>39</sub>P<sub>3</sub>N<sub>5</sub>S-N, 12.29%, Found: N, 12.31%, TLC: Rf=0.77 (acetic acid: acetone=5:95), IR(KBr): 1190(—CH<sub>2</sub>—), 1380(—CH), 1460(CH<sub>3</sub>—C—), 1590(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>—), 1770(lactam 2300(S-group), 2700(—COOH), 3120(—CH—NH<sub>2</sub>).

抗菌力實驗—兩은 석판상배양 試驗法에 따라서 數種의 濃度로 調製하여 使用하고 菌株는 gram 陽性菌으로서 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-p, 9421, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Streptococcus pyogenes*와 陰性菌으로는 *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* A, *Salmonella paratyphi* B, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae* 및 *Neisseria gonorrhoeae*를 사용하였다.

試料인 抗生物質은 methampicillin-lysinate, ampicillin trihydrate(C.K.D) 및 ampicillin trihydrate(C.K.D)과 1mole의 L-lysine(C.K.D)의 混合物이다.

接種液의 調製는 菌株를 각각 Muellerhinton agar(pH 7.4) 培地<sup>68</sup>에 接種하여 35~37°에서 16~20時間 培菌培養한後 새로받은 Muellerhinton agar 培地에 또다시 移種하고 37°에서 18時間 培養, 이를 다시 buffered saline에 浮遊시켜 直徑 9 cm의 規格容器에 一定한 菌液濃度(10<sup>6</sup>/ml)로 한주 接種原液으로 使用하였다. 操作은 平板 agar 稀釋法에 準하여 Muellerhinton agar에 0.1 ml當 40, 20, 8, 6, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.06, 0.03  $\mu$ g에 該當되는 試料가 含有되도록 稀釋하고 충분히 無菌의으로 混合하여 각각 平板에 20 ml의 分注한 후 여액에 接種原液을 1 loop(直徑 3 mm)씩 加하여 37°에서 18時間 培養하여 Manter<sup>71</sup> 및 Toddsanfold<sup>69</sup>의 基準에 따라 被檢菌의 感受性을 最低阻止濃度(MIC)로 判定하였다.

### 結果 및 考察

Ampicillin trihydrate, ampicillin trihydrate와 L-lysine의 混合物 및 methampicillinlysinate에 대한 感受性은 다음 Table I과 같다.

Methampicillin lysinate의 合成은 原料인 6-APA의 溶解度를 增加시키기 위하여 3%의 sodium bicarbonate 溶液을 使用하고 pH에 依한 影響으로 L- $\alpha$ -(N-methylene amino) phenyl acetic acid를 少量씩 加하여 反應을 acetone 溶液中에서 完結시켜 methampicillin을 合成후<sup>9</sup> 當量的으로 L-lysine의 反應시켰다.

10種의 實驗菌株에 對하여 ampicillin trihydrate 및 ampicillin 및 lysine 混合物를 對照物質로 한 本物質의 抗菌力은 *Neisseria gonorrhoeae* 菌株에는 對照物質보다 約 3倍, *Shigella dysenteriae* 菌株에는 約 5倍의 効力을 가지나 Gram 陰性菌에 對해서는 ampicillin trihydrate 自體를 投藥

Table I—Antimicrobial activities *in vitro*

Pathogenic microorganism	Number of Strain	A*	B*	C*
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538-p, 9441	2	0.5	1.0	0.5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	1	2.0	4.0	4.0
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2	0.5	4.0	2.0
<i>Escherichia coli</i>	5	10.0	8.0	6.0
<i>Salmonella typhi</i>	1	8.0	8.0	6.0
<i>Salmonella paratyphi</i> A	1	8.0	8.0	4.0
<i>Salmonella paratyphi</i> B	1	8.0	4.0	4.0
<i>Shigella dysenteriae</i>	2	10.0	4.0	2.0
<i>Vibrio cholerae</i>	1	0.25	0.5	0.5
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	10	0.05~0.25	0.125~0.25	0.05~0.05

\* A: MIC( $\mu\text{g/ml}$ ) of ampicillin trihydrate  
C: MIC( $\mu\text{g/ml}$ ) of methampicillin lysinate

B: MIC( $\mu\text{g/ml}$ ) of ampicillin trihydrate with L-lysine

하것 보다는 L-lysine 을 混合 投藥하는 경우 약 1.68倍, L-lysine 을 化學的으로 methampicillin 에 結合시킬때 効力이 約 3.11倍로 增加했다.

### 文 獻

1. L. Meyer and A. Herxheimer, "Side Effects of Drugs", Vol. 7, 325 (1972). Extra Medica Offices, Amsterdam.
2. E.J. Kuchinska and G.N. Levy, *J. Pharm. Sci.*, **61**, 727 (1972).
3. M. Hatana and T. Ishimaru, *J. Med. Chem.*, **16**, 978 (1973).
4. J.P. Hou and J.W. Peole, *J. Pharm. Sci.*, **60**, 503 (1971).
5. Bulow, *Ber.*, **39**, 469 (1906).
6. H.M. Ericsson, Antibiotic Sensitivity Testing Section B, 1971, Supplement, No 217.
7. A.L. Barry, F. Garcia and L.D. Thrupp, *Am. J. Clin. Path.*, **45**, 493 (1966).
8. Todd-Sonford, *Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*, Saunders Co., Philadelphia, 1963, p-744.
9. 大韓民國 特許局, 公告番號 74-161, 第255號 (1974).