

Substituted Benzothiazolyl Urea 誘導體의 合成 및 抗菌作用에 關한 研究

姜 會 洋

啓明實業專門大學

Studies on the Syntheses and Antimicrobial Activity of Substituted Benzothiazolyl Urea Derivatives

Hoeyang Kang

Keimyung Junior College

Abstract

Twelve benzothiazolyl and 6-substituted benzothiazolyl phenyl and chlorophenyl ureas have been newly synthesized by reacting 2-amino benzothiazole and 2-amino-6-substituted benzothiazole with three or four phenyl and chlorophenyl isocyanate, respectively.

The structures of these compounds were determined by measurement of the molecular weights and elementary analysis as well as IR spectrophotometry.

The compounds generally exhibited antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in the concentration of 50 μ g/ml.

The compounds containing chloro group exhibited stronger antibacterial activity than those containing methyl group against *Escherichia coli*.

The difference in the antibacterial activity according to the substituted group (phenyl, *o*-, *m*-, and *p*-chlorophenyl) was also noted.

The compounds containing *o*-chlorophenyl group, on the whole, exhibited more potent growth-inhibitory activity againsts *staphylococcus aureus*.

I. 緒 論

1934年 Clarke¹⁾ 등이 2-amino, 2-hydroxy 및 2-Mercaptobenzothiazole의 抗苦作用을 報告한 以來, berzothiazole을 母核으로 하는 여러 誘導體들의 合成과 抗菌作用, 抗黴作用, 抗 Virus作用 및 驅虫作用 등에 關한 研究가 活潑하게 進行되어 왔다.

1947年 Freedlander²⁾ 등은 2-butoxy-6-amino benzothiazole의 antitubercular action을 報告하였으며,

1952年 Stritzler³⁾, Ravits⁴⁾ 및 Grunberg⁵⁾는 2-dimethylamino-6-(2-diethylamino ethoxy) benzothiazole 類의 抗菌作用에 關하여, 1957年 Misra⁶⁾는 2, 6-diaminobenzothiazole의 驅虫作用에 關하여 報告하였다.

한편, 1957年 Sasaki⁷⁾는 2,6-diaminobenzothiazole의 Antitubercular action을 報告하였다. 그후, 1972年 Mathew⁸⁾는 2-(1-piperazino) benzothiazole 誘導體가 強한 抗菌作用을 發顯함을 報告하였으며, 1973年 Diekman⁹⁾은 alkylthiobenzothiazole 誘導體의 抗菌作用, 抗真菌作用 및 除草作用 등에 關하여 報告하였다.

以上에서 열거한 benzothiazole 誘導體의 많은 報告中에는 2-amino-6-substituted benzothiazole (A)와 phenylisocyanate, *o*-, *m*-, *p*-chlorophenyl isocyanate (B)로 부터 substituted benzothiazolyl Urea類를 合成한 報告는 아직 없었다. 故로 benzothiazole核을 基本核으로 하는, 보다 強力하고 低毒性인 새로운 substituted benzothiazolyl urea類를 合成할 수 있으리라는데 着眼하고, 이들 合成化合物의 抗菌作用에 興味를 느껴 本 研究에 着手하였다.

著者는 이들 A, B 두 系統의 化合物로 부터 文獻에 記載되지 않은 새로운 substituted benzothiazolyl urea 誘導體 12種을 合成하고 抗菌作用을 觀察하여 若干의 知見을 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實 驗

1. 合成方法

1) substituted benzothiazolyl urea類 化合物의 合成:

a) 2-amino-6-substituted benzothiazole의 合成¹⁰⁾: *p*-chloroaniline(0.05mole) 및 *p*-methylaniline과 KSCN(0.2mole)을 各各 300ml의 三角 flask에 取하고 AcOH 50ml를 加하여 溶解시킨다. 液溫을 25~30°C로 유지하면서 AcOH(0.8mole)와 Br₂(0.05mole)의 混合液을 徐徐히 滴加한다. 滴加終了後 反應을 完結시키기 爲하여 1時間 攪拌한 다음, 粥狀의 反應 混合物를 氷水中에 注加하여 形成된 침전을 取하고 熱湯으로 處理하여 2-amino-6-substituted benzothiazole·HBr을 溶出시킨후, 溶出溶液에 Conc-NH₄OH를 加하여 中和한 다음 充分히 冷却하여 2-amino-6-substituted benzothiazole을 遊離시킨다. 粗結晶을 數回 물로 洗滌한 後 dil-EtOH로 再結晶하였다.

b) substituted benzothiazolyl urea類의 合成: 2-amino-6-substituted benzothiazole (A)와 phenyl isocyanate, *o*-chlorophenyl isocyanate, *m*-chlorophenyl isocyanate, *p*-chlorophenyl isocyanate (B)를 1.0 : 1.2mole로 常溫에서 攪拌하면서 滴加하여 1時間 還流하여 反應시켰으며 折出한 침전을 濾取, 洗滌하여 最終 合成化合物을 얻었다.

2) 精 製:

以上에서 얻은 合成化合物 I~XII를 ether로 세척하고 ethanol로 各各 再結晶하였다.

2. 合成化合物의 確認

1) 元素分析: 各 化合物의 C.H.N의 分析은 F&M Model 180元素分析裝置를 使用하였다.

2) 赤外線分光分析: KBr錠劑法으로 Hitachi EPI-G,

greating infrared spectrophotometer를 使用하였다.

3) 融點測定: 微量融點測定裝置(三田村製)를 使用하였다.

c) 分子量測定: 等溫蒸溜에 依한 方法(Rast)으로 測定하였다. 標準物質로서 diphenyl carbazide를, 溶媒로는 N, N'-dimethyl formamide (DMF)를 使用하였다

3. 抗菌力에 關한 實驗

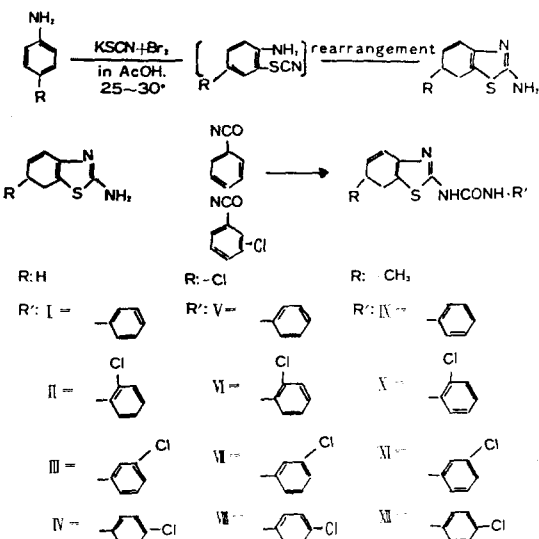
合成物質 12種에 對한 抗菌實驗을 agar dilution method¹¹⁾¹²⁾에 準하여 實施하였다.

培地는 nutrient broth medium(peptone 10g, beef extract 10g, NaCl 5g을 蒸溜水 1l에 溶解시켜 調製, pH7.1~7.2를 使用하고 試驗菌株는 staphylococcus aureus(stap.)와 Escherichia coli(Esch.)를 使用하였다. 檢液은 合成物質 各 20mg을 DMF 10ml에 溶解시켜 1ml當 2,000μg이 含有된 溶液을 만든 後 DMF로 稀釋하여 稀釋液 1ml當 500μg, 250μg, 100μg, 50μg, 20μg이 各各 含有되도록 調製하였으며, 菌液은 試驗菌을 nutrient broth medium(37°C, 18~24時間)中에서 培養한 菌 1mg을 10倍 稀釋하여 그 0.1ml씩을 接種하고 37°C, 18~24時間 培養시킨 다음, 肉眼으로 菌의 發育을 認知할 수 없는 最少濃度로 抗菌力有無를 判定하였다.

III. 實驗結果 및 考察

1. 合成 및 確認

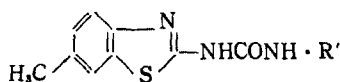
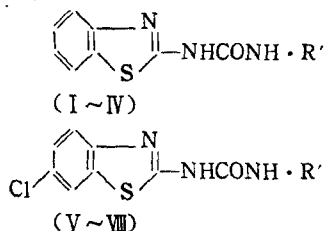
1) 本 合成方法의 反應經路를 表示하면 Scheme 1과 같다.



Scheme 1. Syntheses of Substituted Benzothiazolyl Urea.

2) 合成化合物 I~XII의 分析結果는 Table 1과 같다
 化合物 I~XII는 元素分析值가 計算值와 實驗誤差範圍內에서 一致하고, 分子量이 各各 計算值와 거의 一致하였으며, Scheme 1의 反應에 依하여 各種 substituted benzothiazolyl urea 化合物이 合成되었음을 알 수 있다. 또한 그 IR spectrum¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾에서 3300cm⁻¹ 부근에 V_{N-H}, 1650~1710cm⁻¹와 1600~1630cm⁻¹에 V_{C=O}로 因한 吸收가 各各 나타났으며 이 領域에서는 -CONH의 共鳴效果에 依하여 C=O吸收帶가 低波數 쪽으로 移轉됨을 볼 수 있으며, -NH-CO-NH-의 吸收 Band가 1520~1590cm⁻¹에, thiazole ring의 N=C-S에 依한 吸收 Band가 1450~1490cm⁻¹에 그리고 1050cm⁻¹에 V_{C-Cl}에 起因한 吸收帶가 各各 나타났다.

以上과 같이 그 元素分析, 分子量, IR 및 反應過程을 綜合的으로 考察해 보면 各 合成化合物의 構造는 다음과 같다.



(IX~XII)

N-2-benzothiazolyl-N'-phenyl urea (I)

N-2-benzothiazolyl-N'-o-chlorophenyl urea (II)

N-2-benzothiazolyl-N'-m-chlorophenyl urea (III)

N-2-benzothiazolyl-N'-p-chlorophenyl urea (IV)

N-(6-Chloro-2-benzothiazolyl)-N'-phenyl urea (V)

N-(6-Chloro-2-benzothiazolyl)-N'-o-chlorophenyl urea (VI)

N-(6-Chloro-2-benzothiazolyl)-N'-m-chlorophenyl urea (VII)

N-(6-Chloro-2-benzothiazolyl)-N'-p-chlorophenyl urea (VIII)

N-(6-methyl-2-benzothiazolyl)-N'-phenyl urea (IX)

N-(6-methyl-2-benzothiazolyl)-N'-o-chlorophenyl urea (X)

N-(6-methyl-2-benzothiazolyl)-N'-m-chlorophenyl urea (XI)

N-(6-methyl-2-benzothiazolyl)-N'-p-chlorophenyl urea (XII)

Table 1. Syntheses of NHCONH · R₂

Compd.	R ₁	R ₂	Formula	Appearance	Yield %	Recryst. Solvent	m.p.(°C)	Elementary analysis %			mol. wt. (calcd.)
								C	H	N	
I	H		C ₁₁ H ₁₁ ON ₂ S	colorless needles	78.7	ethanol	230°~232	62.28 (62.44)	4.58 (4.12)	15.52 (15.60)	272 (269.32)
II	H		C ₁₁ H ₁₀ ON ₂ S ClS	colorless needles	72.4	ethanol	232~234 (decomp.)	55.46 (55.36)	3.08 (3.32)	13.65 (13.83)	308 (303.77)
III	H		C ₁₁ H ₁₀ ON ₂ S ClS	colorless needles	74.6	ethanol	238~240	55.24 (55.36)	3.26 (3.32)	13.92 (13.83)	312 (303.77)
IV	H		C ₁₁ H ₁₀ ON ₂ S ClS	colorless needles	83.2	ethanol	250~252 (decomp.)	55.42 (55.36)	3.18 (3.32)	13.72 (13.83)	295 (303.77)
V	-Cl		C ₁₁ H ₁₀ ON ₂ S ClS	colorless needles	77.7	ethanol	272~274	55.24 (55.36)	3.44 (3.32)	13.96 (13.83)	3.0 (303.77)
VI	-Cl		C ₁₂ H ₉ ON ₂ S Cl ₂ S	colorless needles	70.6	ethanol	183~185 (decomp.)	49.58 (49.72)	2.88 (2.98)	12.34 (12.42)	330 (338.21)
VII	-Cl		C ₁₂ H ₉ ON ₂ S Cl ₂ S	colorless needles	75.2	ethanol	200~202 (decomp.)	49.84 (49.72)	3.05 (2.98)	12.54 (12.42)	342 (338.21)
VIII	-Cl		C ₁₂ H ₉ ON ₂ S Cl ₂ S	colorless needles	81.8	ethanol	196~198 (decomp.)	49.66 (49.72)	3.02 (2.98)	12.28 (12.42)	329 (338.21)
IX	-CH ₃		C ₁₂ H ₁₁ ON ₂ S	colorless needles	75.4	ethanol	248~250 (decomp.)	63.44 (63.56)	4.58 (4.62)	14.96 (14.82)	288 (283.45)
X	-CH ₃		C ₁₃ H ₁₂ ON ₂ S ClS	colorless needles	70.2	ethanol	224~226 (decomp.)	56.54 (56.69)	3.94 (3.81)	13.08 (13.22)	313 (317.79)
XI	-CH ₃		C ₁₃ H ₁₂ ON ₂ S ClS	colorless needles	72.6	ethanol	222~224	56.52 (56.69)	3.76 (3.81)	13.28 (13.22)	328 (317.79)
XII	-CH ₃		C ₁₃ H ₁₂ ON ₂ S ClS	colorless needles	80.5	ethanol	209~211 (decomp.)	56.78 (56.69)	3.92 (3.81)	13.14 (13.22)	321 (317.79)

urea (XII)

2. 抗菌力

化合物 I~XII의 抗菌力を 實驗한 結果는 Table 2와 같다.

合成化合物 I~XII는 Gram 陽性菌인 stap.와 Gram 陰性菌인 Esch.에 대하여 共히 約 100 μ g/ml以上の 濃度에서 菌의 發育을 阻止하였으며 benzothiazole核에

chloro, methyl基를 置換시킨 化合物의 抗菌效果를 比較해 보면 stap.에 對하여는 모든 化合物의 效果가 거의 大同小異하였으나 Esch.에 對하여는 置換基가 있는 V~XII의 化合物이 비교적 強한 抗菌效果(20 μ g/ml以上에서 阻止)를 나타내었으며, chlorobenzothiazolyl類 (V~VIII)는 20 μ g/ml以上の 濃度에서, methyl benzothiazolyl類(IX~XII)는 250 μ g/ml 以上の 濃度에서 그 發育을 阻止하였다.

Table 2. Antibacterial Activity of the Compounds (I~XII)*

Strains Drug conc. Compd. μ g/ml	<i>Escherichia coli</i>					<i>Staphylococcus aureus</i>				
	20	50	100	250	500	20	50	100	250	500
I	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-
II	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-
III	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-
IV	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-
V	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
VI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VII	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
VIII	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
IX	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-
X	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
XI	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-
XII	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-
Nitrofurantoin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Control	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

* -; absence of growth, +; presence of growth

그리고 chlorophenyl群이 置換된 化合物의 抗菌效果를 比較해 보면 Esch.에 對하여는 benzothiazolyl *o*-, *m*-, *p*-chlorophenyl類가 共히 비슷한 傾向을 나타내었으나 stap.에 對하여는 *o*-體(II, VI, X)가 *m*-體(III, VII, XII)와 *p*-體(IV, VIII, XII)보다 比較的 強한 傾向을 나타내었다. 以上の 結果에서 本 合成化合物은 그 構造上 Halogen置換基의 種類와 有無 및 ortho, meta, para位에 chlorophenyl基가 置換됨에 따라 抗菌效果에 差異가 있는것 같다.

D.R. Osborne¹⁶⁾과 Hamada¹⁷⁾ 등은 數種의 Carbanilide類가 stap.와 Bacillus에 對하여 ortho體群이 para體群보다 強한 抗菌力을 나타내고, Esch.와 Salm. 등에 對하여는 ortho體群 보다 para體群이 더 強한 抗菌力을 가지며 phenoxy群을 導入하였을때 보다 naphthoxy群을 導入하였을때가 더 強한 作用이 있다고 報告한바 있으나 benzothiazole誘導體나 Urea誘導體에 對하여서는 alkyl 또는 Halogen元素와의 置換問題라든지 ortho, meta, para位에 對한 抗菌作用의 比較는 없었

으며 本 實驗의 結果로서 benzothiazolyl urea類는 置換基 및 그 置換位置에 基因한 化學構造와 抗菌作用間에 一聯의 相關關係가 있음을 推測할 수 있다.

IV. 結 論

1) 2-Aminobenzothiazole 및 2-Amino-6-substituted benzothiazole과 phenyl, *o*-chlorophenyl, *m*-chlorophenyl, *p*-chlorophenyl isocyanate를 縮合시켜 substituted benzothiazolyl urea類 12種을 좋은 收得率로 合成하였다.

2) 上記 新化合物 12種에 對하여 *Escherichia coli* 및 *staphylococcus aureus*를 實驗菌株로한 抗菌力 實驗을 行하였으며

3) 이들은 上記 2菌株에 對하여 50 μ g/ml 以上の 濃度에서 그 發育을 阻止하였다.

4) Alkyl基導入의 效果는 Stap.에 對하여는 別다른 變化가 없었으나 Esch.에 對하여는 H>chloro>methyl

體의 順으로 그 發育을 阻止하였다.

5) Chlorophenyl基의 置換效果는 Esch.에 對하여는 大同小異하였으나 Stap.에 對하여는 *o*-chlorophenyl體가 *m*-體나 *p*-體보다 더 強한 抗菌效果를 나타내었다.

參 考 文 獻

- 1) Brit. Pat. 407691, 1934.
- 2) B.L. Freedlander and F.A. French: Proc. Soc. Exptl. Bio. Med., 66, 362, 1947.
- 3) Stritzler C., I.M. Fishman and S. Laurens: Trans. N.Y. Acad. Sci. (2) 13, 31, 1947.
- 4) Ravits H.G.: J. Am. Med. Assoc., 148, 1005, 1952.
- 5) Grunberg E., G. Soo Hoo, et al.: Trans. N.Y. Acad. Sci., (2) 13, 22, 1950.
- 6) Anand L. Misra, et al.: J. Chem. Soc., 3919, 1954.
- 7) M. Sasaki, Kekkaku, 32, 201, 245, 290, 1957.
- 8) Verderame Mathew: J. Med. Chem., 15, 693, 1972.
- 9) Diekman John D.: U.S. Pat., 3715363, 1973.
- 10) Randvere F.V.: Fr. Pat. 1502178, 1967.
- 11) J.B. Bauer and P.G. Ackerman: Clinical Laboratory Method, 8th Ed., C.V. Mosby, Saint Louis, p.662, 1974.
- 12) S. Frankel, S. Reitman, and A.C. Sonnenwir: Clinical Laboratory Method & Diagnosis. 7th Ed. C.V. Mosby, Saint Louis, p.140, 1976.
- 13) K. Nakanishi: Infrared Absorption Spectroscopy. Nankodo Co. LTD., Tokyo. 1967.
- 14) L.J. Bellamy: The Infrared Spectra of Complex Molecules. 2nd Ed., John Wiley & Son, New York 1958.
- 15) R.M. Silverstein, and G.C. Bassler: Spectrometric Identification of Organic Compounds. 2nd Ed., John Wiley & Son, New York 1967.
- 16) D.R. Osborne: Brit. Pat. 1224638, 1968.
- 17) 濱田喜樹・松岡英子・度邊倫子・日本藥學雜誌 96, 163, 1976.