

Cefadroxil 을 사용한 Alkylene Bisdithioureido β -Lactam 유도체의 합성 및 항균작용

이기홍¹ · 김돈기² · 김지한² · 성동호^{2*} · 유주현¹

¹연세대학교 식품공학과 ²(주) 보령제약

The Synthesis and Antispectrum of Alkylene Bisthioureido β -Lactam Derivatives of Cefadroxil.

Lee, Ki-Hong¹, Dong-Ki Kim², Ji-Han Kim², Dong-Ho Seong^{2*} and Ju-Hyun Yu¹

¹Department of Food Engineering, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea.

²Boryung Pharmaceutical Co., LTD., Seoul 110-450, Korea.

The three new alkylene bisdithioureido β -lactam derivatives were synthesized and evaluated for antimicrobial activities. Treatment of cefadroxil · 2DMF with alkylene diisothiocyanate which was obtained by the reaction of alkylene diamine with carbon disulfide, sodium hydroxide and ethyl chloroformate afforded alkylene bisdithioureido β -lactam derivatives. The antimicrobial activities of the compounds synthesized were ethylene bisdithioureido β -lactam derivative lost the sensitivity against *Escherichia coli* but showed potent antimicrobial activity against β -lactam^s *Escherichia coli*, but, tetramethylene bisdithioureido β -lactam derivative and hexamethylene bisdithioureido β -lactam derivative compounds showed diminished or no antimicrobial activities.

최근 생리활성을 가진 두개의 물질이 spanner chain 으로 연결된 bivalent ligand 구조(1-8)를한 의약품개발이 중요시되고 있다. 특히, bivalent ligand 구조를 가진 수종의 alkylene diisothiocyanate 는 강력한 항균작용이 있어 이에 대응하는 monovalent ligand 구조를한 monoisothiocyanate 보다 1000 배나 강한 항균작용이 있다고 보고되어 있다(9). 또한, *p*-aminosalicylic acid(F.A.S.)와 thioacetazone 을 thioureido 형태로 결합시킨 화합물이 P.A.S. 보다 강력한 항결핵작용이 있으며(10, 11) thioureido group 을 ureido group 으로 치환할 경우 항균작용이 소실되는 점(12)으로 보아 thioureido group 이 항균작용 발현에 중요한 역할을 하는 것으로 생각하고 있다. 본 연구에서는 spanner chain 의 탄소수가 2, 4 또는 6개의 alkylene diisothiocyanate 를 합성 후(9) cefadroxil · 2DMF 와 반응시켜(13, 14) spanner chain 의 탄소수 2, 4 또는 6으로 연결되어 있고 양쪽에 thioureido group 과 β -lactam ring 을 가진 bivalent ligand 구조의 alkylene bisdithioureido β -lactam 유

도체를 합성하고 그 화합물들의 항균작용에 대하여 연구하였다.

재료 및 방법

사용시약

Cefadroxil · monohydrate 는 영국약전규격에 적합하게 합성하여 사용하였으며 기타 일반시약은 시판 일급 이상의 시약을 사용하였다.

기기분석

I.R. spectrum 은 Perkin Elmer 1430 Ratio recording infrared spectrophotometer, N.M.R. spectrum 은 Hitachi R-24B N.M.R. spectrometer, 원소분석은 Perkin Elmer 3600 Elemental thermal analyzer 를 사용하여 측정하였다. Thin layer chromatography (T.L.C.)는 Merck 사 제품 Kieselgel 60 F₂₅₄를 사용하여 acetone : benzene : methanol : acetic acid = 10 : 14 : 7 : 3 또는 ethylacetate : methanol : 28%

Key words: Alkylene bisthioureido β -lactam derivatives of cefadroxil, antispectrum

*Corresponding author

응액을 여과하여 얻은 여액을 농축한 다음 tetrahydrofuran 4 ml 에 녹인 후 이 용액을 증류수 30 ml 에 30 분간 적가하고 2 시간 교반 후 여과하여 침전물을 얻었다. 이 침전물을 methanol 4 ml 에 녹인 후 여과하고 이 여액을 증류수 40 ml 에 적가하여 2 시간 동안 결정을 석출시킨 후 여과하고 P₂O₅에서 감압건조하여 2.40g 의 미황색결정을 얻었으며, 수득율은 54.16% 이었다.

항균작용 실험법

사용균주 및 배지 : 항균역가를 측정하기 위한 피검균은 *Bacillus subtilis* KFCC 11316, *Pseudomonas aureofaciens* KFCC 34716, *Staphylococcus aureus* KFCC 11499, *Candida albicans* KFCC 11282, *Aspergillus niger* KFCC 11480, *Escherichia coli* (β -lactam 비감수성균), *Escherichia coli* (β -lactam 감수성균) 을 사용하였다. 점정용 배지는 beef extract 1.5g, yeast extract 1.5g, pepton 5g, dextrose 1g, sodium chloride 3.5g, dipotassium phosphate 3.68g 을 1l 물에 녹인 후 1.5% 또는 0.3% 한천배지를 조제하여 사용하였다.

항균력 측정방법 : 배양액의 항균력 측정은 점정용 배지에 0.3% 한천을 넣은 0.3% 한천배지 4 ml 를 가열용해한 후 50°C 로 냉각시키고 여기에 액체배양된 피검균 0.2 ml 를 접종 현탁시킨 뒤 1.5% 한천 평판배지위에 증충하였다. 이때에 *Aspergillus niger* 는 포자 현탁액을 사용하였다.

0.5 M-phosphate buffer (pH 7.5)에 1 mg/ml 농도로 조제된 항생물질을 paper disc (d : 8mm)에 흡착하여 건조시킨 다음 피검균이 접종된 한천 평판배지 위에 올려놓았다. 그 후 평판배지를 37°C, 24 시간 배양하고 형성된 생육 저지환의 직경을 측정하여 항균력을 검사하였다.

결과 및 고찰

Alkylene bisdithioureido β -lactam derivatives (I ~III)의 합성

Ethylene bisdithioureido β -lactam derivative (I)의 합성 : Cefadroxil · 2DMF 를 molecular sieves 로 탈수하여 증류한 methylene chloride 에 현탁시킨 후 bis(trimethylsilyl)acetamide 를 사용하여 silylation 한 다음 ethylene diisothiocyanate 와 반응시켜 얻은 합성화합물 (I)은 pale yellow crystal 상이며 수득율은 43.82% 이었으며 thin layer chromatography 를 acetone : benzene : methanol : acetic acid = 10 :

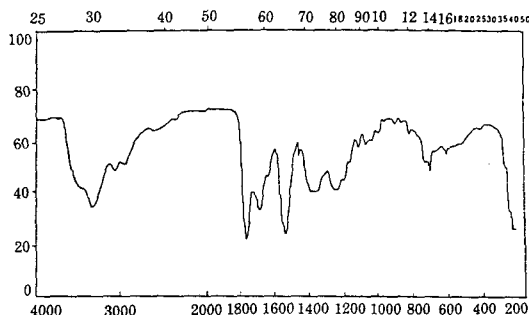


Fig. 3. I.R. spectrum of compound I.

14 : 7 : 3 의 전개용매에서 행한 결과 출발물질인 cefadroxil · 2DMF 의 Rf 값은 0.24 이고 합성화합물 (I) 의 Rf 값은 0.58 로 Rf 값이 달라졌으며 원소분석 결과 분석치는 C, 49.47% : H, 4.54% : N, 12.76% 이며 이론치는 C, 49.64% : H, 4.40% : N, 12.87% 이므로 분자식 C₃₆H₃₈N₈O₁₀S₄라고 할 수 있다. I.R.

spectrum (KBr)은 3300 cm⁻¹에서 $\text{-}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}\text{-NH-}$, 2900 cm⁻¹에서 $\text{-CH}_2\text{-}$, 1770 cm⁻¹에서 β -lactam 의 $\text{-}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C-}$, 1680 cm⁻¹에서 $\text{-}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C-O-}$ 에 의한 흡수대를 확인할 수 있다 (Fig.3).

N.M.R. spectrum (CF₃COOH)에서는 δ 2.4 에서 s, 6H, -CH_3 , δ 3.4~4.1 에서 m, 8H, -S-CH_2 와 $\text{-NH-CH}_2\text{-CH-NH-}$, δ 5.1~6.0 에서 m, 6H,

$\text{-}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{CH-C-}$ 와 β -lactam 의 -CH-CH- , δ 7.3~7.6 에

서 m, 8H, Ar-H 를 확인할 수 있으므로 (Fig.4) 이 화합물은 ethylene bisdithioureido β -lactam 유도체 (I)라고 할 수 있다.

Tetramethylene bisdithioureido β -lactam derivative

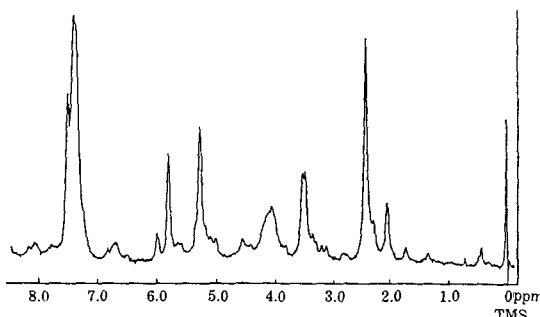


Fig. 4. N.M.R. spectrum of compound I.

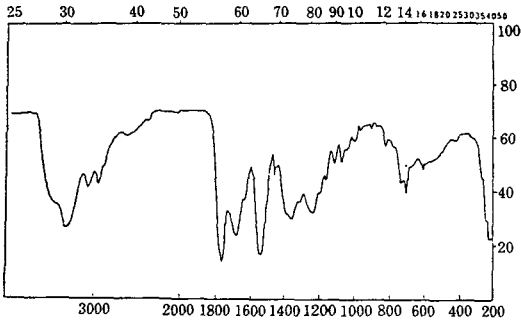


Fig. 5. I.R. spectrum of compound II.

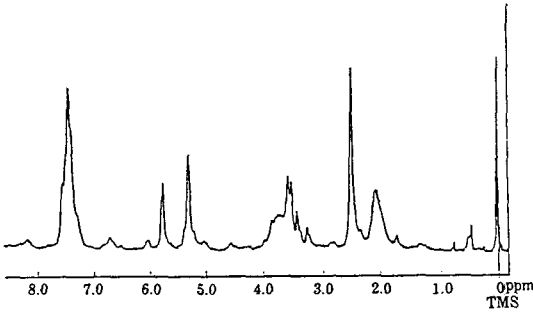


Fig. 6. N.M.R. spectrum of compound II.

의 합성 : Cefadroxil · 2DMF 를 molecular sieves 로 탈수하여 증류한 methylene chloride 에 현탁시킨 후 bis(trimethylsilyl) acetamide 를 사용하여 silylation 한 다음 tetramethylene diisothiocyanate 와 반응시켜 얻은 합성화합물(II)는 pale yellow crystal 상이며 수득율은 53.93% 이었으며 thin layer chromatography 를 acetone : benzene : methanol : acetic acid=10 : 14 : 7 : 3 의 전개용매에서 행한 결과 출발 물질인 cefadroxil · 2DMF 의 Rf 값은 0.24 이고 합성 화합물(II)의 Rf 값은 0.54 로 Rf 값이 달라졌으며, 원소분석 결과 분석치는 C, 50.63% : H, 4.52% : N, 12.17% 이며 이론치는 C, 50.72% : H, 4.70% : N, 12.46% 이므로 분자식 C₃₈H₄₂N₈O₁₀S₄ 라고 할 수 있

다. I.R. spectrum(KBr)은 3300 cm⁻¹에서 $\begin{matrix} \text{O} \\ || \\ -\text{C}- \\ | \\ \text{NH}- \end{matrix}$, 2900 cm⁻¹에서 $-\text{CH}_2-$, 1770 cm⁻¹에서 $\begin{matrix} \text{O} \\ || \\ -\text{C}-\text{O}- \end{matrix}$ 에 의한 흡수대를 확인할 수 있다(Fig.5).

N.M.R. spectrum(CF₃COOH)에서는 δ1.7~2.6에서 m, 10H, $-\text{CH}_3$ 와 $-(\text{CH}_2)_2-$, δ3.4~3.9에서 m, 8H, $-\text{S}-\text{CH}_2-$ 와 $-\text{NH}-\text{CH}_2-$, δ5.1~6.1에서 m, 6H, $\begin{matrix} \text{O} \\ || \\ -\text{CH}-\text{C}- \\ | \\ \text{NH} \end{matrix}$ 와 β-lactam 의 $\begin{matrix} \text{O} \\ || \\ -\text{CH}-\text{CH}- \\ | \quad | \end{matrix}$,

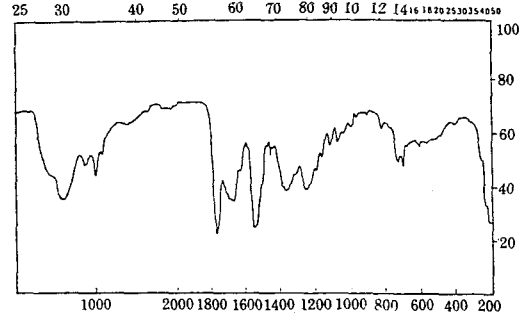


Fig. 7. I.R. spectrum of compound III.

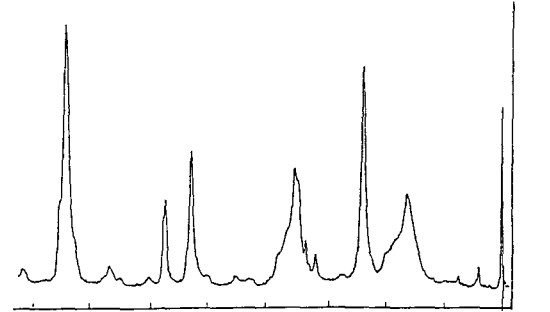


Fig. 8. N.M.R. spectrum of compound III.

δ7.3~7.6에서 m, 8H, Ar-H 를 확인할 수 있으므로 (Fig.6)이 화합물은 tetramethylene bisdithioureide β-lactam 유도체 (II)라고 할 수 있다.

Hexamethylene bisdithioureido β-lactam derivative (III)의 합성 : Cefadroxil · 2DMF 를 molecular sieves 로 탈수하여 증류한 methylenechloride 에 현탁시킨 후 bis(trimethylsilyl) acetamide 를 사용하여 silylation 한 다음 hexamethylene diisothiocyanate 와 반응시켜 얻은 합성화합물은 pale yellow cristal 상이며 수득율은 54.16% 이었으며 thin layer chromatography 를 acetone : benzene : methanol : acetic acid=10 : 14 : 7 : 3 의 전개용매에서 행한 결과 출발물질인 cefadroxil · 2DMF 의 Rf 값은 0.24 이고 합성화합물(III)의 Rf 값은 0.51 로 Rf 값이 달라졌으며 원소분석 결과 분석치는 C, 51.63% : H, 4.76% : N, 11.84% 이며 이론치는 C, 51.82% : H, 5.00% : N, 12.09% 이므로 분자식 C₄₀H₄₆N₈O₁₀S₄ 라고 할 수 있다. I.R.

spectrum(KBr)은 3300 cm⁻¹에서 $\begin{matrix} \text{O} \\ || \\ -\text{C}-\text{NH}- \end{matrix}$, 2900 cm⁻¹에서 $-\text{CH}_2-$, 1770 cm⁻¹에서 β-lactam 의 $\begin{matrix} \text{O} \\ || \\ -\text{C}- \\ | \\ \text{NH} \end{matrix}$, 1680 cm⁻¹에서 $\begin{matrix} \text{O} \\ || \\ -\text{C}-\text{O}- \end{matrix}$ 에 의한 흡수대를 확인할 수 있다(Fig.7).

Table 1. Antispectrum of alkylene bisdithioureido β -lactam derivatives (I, II, III).

Microorganism	Compound Cefadroxil \cdot H ₂ O	I	II	III
<i>Staphylococcus aureus</i> KFCC 11499	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> KFCC 11316	+++	+++	++	++
<i>Pseudomonas aureofaciens</i> KFCC 34716	-	-	-	-
<i>E. coli</i> (β -lactam 비감수성균)	+	-	-	-
<i>E. coli</i> (β -lactam 비감수성균)	++	+++	+	+
<i>Aspergillus niger</i> KFCC 11480	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i> KFCC 11282	-	-	-	-

*Diameter of cleare zone; more than 25mm: + + +, more than 20mm: + +, more than 8mm: + and below 8mm: -.

N.M.R. spectrum (CF₃COOH)에서는 δ 1.5~2.6에서 *m*, 14H, -CH₃-, -(CH₂)₄, δ 3.2~3.9에서 *m*, 8H, -S-CH₂-, δ 5.1~5.9에서 *m*, 6H, $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{CH}-\text{C}- \\ | \\ \text{NH} \end{array}$,

β -lactam의 $\begin{array}{c} -\text{C}-\text{H}-\text{C}- \\ | \quad | \end{array}$, δ 7.2~7.7에서 *m*, 8H, Ar-H를 확인할 수 있으므로(Fig.8) 이 화합물은 hexamethylene bisdithioureido β -lactam 유도체(III)라고 할 수 있다.

항균작용

합성한 alkylene bisdithioureido β -lactam 유도체인 I, II, III 화합물을 사용하여 항균력을 검토한 결과는 Table 1과 같았다.

β -lactam 항생제는 gram 양성세균에 항균력이 강하고, Gram 음성균에 대한 항균력이 강하지 못하다. Cefadroxil을 반응시켜 얻은 spanner chain의 탄소수를 2, 4 또는 6으로 연결하고, 양쪽에 thioureido group과 β -lactam ring을 가진 bivalent ligand 구조의 alkylene bisdithioureido β -lactam 유도체도 cefadroxil과 같이 *Aspergillus*와 *Candida*의 진핵세포 또는 *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*에 대한 항균력이 있었다. 그리고 이들 유도체를 cefadroxil \cdot H₂O에 비교할 경우는 *Bacillus subtilis*에 대한 항균력은 같았다. β -lactam에 감수

성인 *E. coli*에 대해서는 약간 우수한 항균력을 보였으나 다른 합성화합물 II와 III은 항균력이 감소하였으며, spanner chain의 탄소수가 많아질수록 항균력이 감소하였다.

요 약

Spanner chain의 탄소수가 2, 4 또는 6개의 alkylene diisothiocyanate를 합성 후 cefadroxil \cdot 2DMF와 반응시켜 spanner chain의 탄소수 2, 4 또는 6개로 연결되어 있고 양쪽에 thioureido group과 β -lactam ring을 가진 bivalent ligand 구조의 alkylene bisdithioureido β -lactam 유도체를 합성하고 그 화합물들의 항균작용에 대하여 연구하였다. 그 유도체의 I식 화합물은 C₃₆H₃₈N₈O₁₀S₄, II식 화합물은 C₃₈H₄₂N₈O₁₀S₄, III식 화합물은 C₄₀H₄₆N₈O₁₀S₄의 분자식이다. β -lactam 감수성 균주에 대한 항균력은 spanner chain의 탄소수가 많을수록 감소하였다.

사 사

본 연구에 많은 도움을 주신 보령제약 주식회사 김승호 사장님께 감사드립니다.

참고문헌

- Jancso, N. Von and H. Von Jancso: *A. Immunitätsforsch.*, **86**, 1 (1935)
- Lourie, E.M. and W. Yorke: *Ann. Trop. med. Parasitol.*, **3**, 435 (1937)
- Thrower, W.R. and F.C. Valentine: *Lancet*, **1**, 133 (1943)
- Wien, R., J. Harrison and W.A. Freeman: *Brit. J. Pharmacol.*, **3**, 211 (1948)
- Berg, S.S. and G. Newberry: *J. Chem. Soc.*, 642 (1949)
- Rose, F.L. and G. Swain: *J. Chem. Soc.*, 4422 (1956)
- McNamara, T.F., H.I. Streinbac and B.S. Schwarz: *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **16**, 499 (1965)
- James, J.W., J.A. Baker and L.F. Wiggins: *J. Med. Chem.*, **11**, 942 (1963)
- Klopping, H.L. and G.T.M. Vander Kerk: *Rec. Trav. Chim.*, **70**, 949 (1951)
- Harington, C.R., P.D. Acry Hart and R.H.W. Rees: *Lancet*, **264**, 929 (1953)
- Fujikawa, F. etc: *Yakugaku Zasshi* **91**(10), 1275 (1972)
- Burger, A.: *Med. Chem.* (3rd ed.) Wiley-Interscience, New York, 431 (1970)
- Yabuuchi, T. etc.: *Chem. Pharm. Bull.*, **23**(3) 663-673 (1975)
- Dangeli, F. etc.: *J. Org. Chem.*, **28**, 1596 (1963)

(Received March 6, 1989)