

## Glycyl Norfloxacin 유도체의 합성과 항균작용

이현수 · 임채욱 · 임철부<sup>#</sup>

중앙대학교 약학대학 의약품화학 교실

(Received June 12, 1999)

## Synthesis and Antimicrobial Activity of Glycyl Norfloxacin Derivatives

Hyun Soo Lee, Chaeuk Im and Chul Bu Yim<sup>#</sup>

Division of Medicinal Chemistry, College of Pharmacy, Chung-ang University, Seoul 156-756, Korea

**Abstract** — The synthesis and antimicrobial activity of N-substituted glycyl derivatives of Norfloxacin were described. Norfloxacin was treated with chloroacetyl chloride to yield chloroacetyl norfloxacin (1). This compounds was treated with alkylamines to obtain quinolone carboxylic acids (2-6), which were reacted with pivaloyloxymethyl chloride to get pivaloyloxymethyl quinolone carboxylates (7-11). Free carboxylic quinolones (2-6) showed little stronger activities to their pivaloyloxymethyl esters (7-11). In quinolone analogues, longer alkyl chain compounds showed stronger activities than shorter one.

**Keywords** □ Norfloxacin, antibacterial agent, glycyl derivative.

Quinolone 항균제의 분자변환조작에 의한 구조개선은 Koka<sup>1)</sup> 등에 의한 Norfloxacin의 발견으로부터 시작된 이후, 제3세대 Quinolones로 일컬어지는 새로운 Quinolones의 연구가 심도깊게 이루어져서 Ciprofloxacin,<sup>2)</sup> Ofloxacin,<sup>3)</sup> Enoxacin,<sup>4)</sup> Pefloxacin,<sup>5)</sup> Amifloxacin,<sup>6)</sup> Difloxacin<sup>7)</sup> 등의 우수한 항균제의 개발을 이룩하게 되었다. 이 약품들은 분자구조의 6번 위치에 fluorine 및 7번 위치에 1-piperaziny기를 공통적으로 함유하며 이들 기가 약물활성 발현에 중요한 기능을 하는 것으로 사료된다.

이들 새로운 Quinolone 유도체는 종래의 Quinolones에 비하여 항균력이 매우 크고 광역의 항균 spectrum을 가질 뿐 아니라, 약물동력학적 성질에 기인하는 체내동태와 항균력과의 균형이 잘 이루어져 전신감염증에도 매우 우수한 임상적 치료효과를 나타내어서  $\beta$ -lactam antibiotics에 필적하는 항미생물제로 평가되고 있다. Norfloxacin<sup>8)</sup>은 *Pseudomonas aeru-*

*ginosa*를 포함하는 Gram 음성균과 많은 Gram 양성균에 대하여도 강한 항균력과 폭넓은 항균 spectrum을 보여주며 활성체의 농중농도, 배설률 및 조직이행성 등이 양호하여 전신감염증에 폭넓은 치료효과를 보여주고 있으나, 일부의 Gram 양성 균과 및 혐기성균에 대하여 항균력이 강하지 못하고 경구흡수성 및 혈중농도 등이 다소 낮은 단점이 있다.

한편 piperaziny기의 N-H의 치환에 의하여 구조를 개량하려는 연구가 시도되어, Norfloxacin의 N-methyl체인 pefloxacin<sup>5)</sup>의 *in vitro* 활성은 Norfloxacin 보다 약간 낮으나 경구투여시 *in vivo*에서 2-7배의 항균 작용이 있음을 보고하였으며, 이것은 경구흡수성의 증가, 비교적 긴 혈청반감기 및 높은 혈중농도 등에 기인하는 것으로 시사된다.

이상에서 기술된 보고에 주목하고 저자는 보다 우수한 항미생물제를 탐색하고, 구조와 생리활성과의 관계에 대한 새로운 정보를 얻을 것을 목적으로 본 연구에 착수하였다. Quinolone계 항미생물제중 piperaziny기를 가지며 근래 우수한 합성화학요법제로 평가되고 있는 Norfloxacin 분자구조를 대상으로 분자 변환조작을

<sup>#</sup> 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 02-380-1805 (팩스) 02-380-1806

시도하여, piperazinyl 기의 N-H를 다양한 N-alkyl체로 치환된 구조의 화합물을 합성하였다. 한편 약물활성은 매우 높으나 생체내 이용률이 낮아 충분한 치료효과를 갖지 못하는 경우, 그 약물의 화학구조를 ester화하여 pro-drugs의 형태로 변환시켜 약물동력학적 성질을 개선함으로써 치료효과를 증대시킬 수 있다. 그 예로써 Ampicillin의 Pivaloyloxymethyl ester 및 Phthalidyl ester인 Pivampicillin 및 Talampicillin등이 있다. 이에 저자는 항균력이나 생체내 이용률을 개선시켜 보다 우수한 quinolone carboxylic acid 유도체의 pro-drug를 탐색할 목적으로 상기 합성화합물의 pivaloyloxymethyl esters를 합성하였다.

### 실험방법

합성화합물의 분석시험에는 용점측정기 Gallenkamp MFB-595-0306을 사용하였고, 적외선 분광광도계로 Nicolet 5-MX를 사용하였으며, 원소분석기로 Perkin Elmer Model 240XA를 사용하였다. NMR은 tetramethylsilane (TMS)를 내부표준물질로 사용하여 Varian XL-200으로 측정하였다. TLC에서는 silicagel plate(Merck 60 F<sub>254</sub>, thickness 0.2 mm)를 사용하였고, UV light 또는 iodine vapour에 의하여 spot를 확인하였다.

**1-Ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-chloroacetyl-1-piperazinyl) quinoline-3-carboxylic acid (1)의 합성** - Norfloxacin 9.60 g(30 mmole)을 50~55°C의 온도에서 acetic acid(30 ml)에 가온 용해한 후, 실온으로 냉각하고 acetone(15 ml)과 triethylamine(4.2 ml) 및 chloroacetyl chloride 2.4 ml(30 mmole)를 가한다. 실온에서 1시간 교반한 후, H<sub>2</sub>O 10 ml를 가하여 생성된 침전을 흡인여과하고, 물과 acetone의 혼합용액으로 2-3회 세척한다. 침전물을 에탄올과 DMF에서 재결정하여 백색의 결정성 분말을 얻었다. Yield: 10.96 g(92%); mp: 280~281°C; R<sub>f</sub>=0.66(CHCl<sub>3</sub>: MeOH: Toluene: Diethylamine: H<sub>2</sub>O=5:5:2.5:1.9:1); IR(KBr) 2950, 1710, 1650, 1475, 1250 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>), δ: 1.42(t, 3H), 3.70, 3.80(two t, 8H), 4.50(s, 2H), 4.58(q, 2H), 7.22(d, 1H), 7.90(d, 1H), 8.94(s, 1H)

Anal. Calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>C<sub>1</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>  
C54.61, H4.80, N10.62

Found C54.85, H4.55, N10.82

**1-Ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-N-propylglycyl-1-piperazinyl) quinoline-3-carboxylic acid (2)의 합성** - 화합물(1) 3.96 g(10 mmole)을 DMF(100 ml)에 가온 용해한 후, 실온에서 n-propylamine 2.59 g을 가하고 2~3시간 반응시킨다. 반응 혼합액을 감압 농축하여 생성된 침전을 흡인 여과한 후, DMF와 MeOH의 혼합용매로 재결정하여 미황색의 결정성 분말을 얻었다. Yield: 74%; mp: 270~273°C; R<sub>f</sub>=0.68(CHCl<sub>3</sub>: MeOH: Toluene: Diethylamine: H<sub>2</sub>O=5:5:2.5:1.9:1); IR(KBr) 3400, 2950, 1700, 1650, 1475 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>), δ: 1.31~1.45(m, 8H), 3.35~3.72(m, 10H), 4.15(s, 2H), 4.60(q, 2H), 7.20(d, 1H), 7.90(d, 1H), 8.95(s, 1H)

이와 유사한 방법으로 isopropylamine, n-butylamine, N,N-dibutylamine, 및 isobutylamine을 사용하여 화합물(3), (4), (5), (6)을 합성하였다.

**1-Ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-N-isopropylglycyl-1-piperazinyl) quinoline-3-carboxylic acid(3)의 합성** - Yield: 64%; mp: > 300°C; R<sub>f</sub>=0.69(CHCl<sub>3</sub>: MeOH: Toluene: Diethylamine: H<sub>2</sub>O=5:5:2.5:1.9:1); IR(KBr) 3420, 2900, 1720, 1640, 1480 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>), δ: 1.32~1.47(m, 9H), 3.36~3.71(m, 9H), 4.15(s, 2H), 4.65(q, 2H), 7.25(d, 1H), 8.00(d, 1H), 9.00(s, 1H)

**1-Ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-N-butylglycyl-1-piperazinyl) quinoline-3-carboxylic acid (4)의 합성** - Yield: 73%; mp: 267~268°C; R<sub>f</sub>=0.69(CHCl<sub>3</sub>: MeOH: Toluene: Diethylamine: H<sub>2</sub>O=5:5:2.5:1.9:1); IR(KBr) 3420, 2970, 1740, 1630, 1480 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>), δ: 1.31~1.39(m, 10H), 3.31~3.69(m, 10H), 4.10(s, 2H), 4.65(q, 2H), 7.25(d, 1H), 7.95(d, 1H), 8.95(s, 1H)

**1-Ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-N,N-dibutylglycyl-1-piperazinyl)quinoline-3-carboxylic acid (5)의 합성** - Yield: 41%; mp: 216~218°C; R<sub>f</sub>=0.76(CHCl<sub>3</sub>: MeOH: Toluene: Diethylamine: H<sub>2</sub>O=5:5:2.5:1.9:1); IR(KBr) 3440, 2950, 1730, 1650, 1490 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>), δ: 1.28~1.48(m, 17H), 3.35~3.72(m, 12H), 4.11(s, 2H), 4.65(q, 2H), 7.25(d, 1H), 8.00(d, 1H), 8.95(s, 1H)

**1-Ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-N-isobu-**

tylglycyl-1-piperaziny) quinoline-3-carboxylic acid (6)의 합성 - Yield: 64%; mp: 183~185°C;  $R_f=0.70(\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} : \text{Toluene} : \text{Diethylamine} : \text{H}_2\text{O} = 5:5:2.5:1.9:1)$ ; IR(KBr) 3420, 2960, 1725, 1640, 1480  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO}-d_6)$ ,  $\delta$ : 1.31~1.47(m, 10H), 3.35~3.72(m, 10H), 4.10(s, 2H), 4.65 (q, 2H), 7.25(d, 1H), 8.00(d, 1H), 9.00(s, 1H)

**Pivaloyloxymethyl 1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-N-propylglycyl-1-piperaziny) quinoline-3-carboxylate(7)의 합성** - 화합물(2) 2.68 g을 DMF(50 ml)에 가온 용해하고,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ (3.3 g) 및 KI(1.0 g)을 가하여 50~60°C에서 2시간동안 반응시킨다. Pivaloyloxymethyl chloride 1.35 g을 acetone 5 ml에 용해시킨 용액을 반응혼합액에 가하여 80~85°C에서 3-4시간 교반한다. 반응액을 감압 농축한 후, 20%  $\text{NH}_4\text{Cl}$ 용액(300 ml)에 현탁하여 흡입 여과하고, DMF와 MeOH의 혼합용매로 재결정하여 미황색의 결정성 분말을 얻었다. Yield: 54%; mp: 182~185°C;  $R_f=0.84(\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} : \text{Toluene} : \text{Diethylamine} : \text{H}_2\text{O} = 5:5:2.5:1.9:1)$ ; IR(KBr) 3400, 2980, 1720, 1640, 1475  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO}-d_6)$ ,  $\delta$ : 1.15 (s, 9H), 1.30~1.49(m, 8H), 3.35~3.72(m, 12H), 4.60(q, 2H), 6.01(s, 2H), 7.10(d, 1H), 7.90(d, 1H), 8.70(s, 1H)

이하 동일한 방법으로 화합물(3), (4), (5), (6)을 원료로 하여 화합물(8), (9), (10), (11)을 합성하였다.

**Pivaloyloxymethyl 1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-N-isopropylglycyl-1-piperaziny) quinoline-3-carboxylate(8)의 합성** - Yield: 43%; mp: 251~253°C;  $R_f=0.85(\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} : \text{Toluene} : \text{Diethylamine} : \text{H}_2\text{O} = 5:5:2.5:1.9:1)$ ; IR(KBr) 3390, 2960, 1720, 1630, 1475  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO}-d_6)$ ,  $\delta$ : 1.20(s, 9H), 1.30~1.49(m, 9H), 3.36~3.81(m, 11H), 4.50 (q, 2H), 6.09(s, 2H), 7.15(d, 1H), 7.80(d, 1H), 8.70(s, 1H)

**Pivaloyloxymethyl 1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-N-butylglycyl-1-piperaziny)quinoline-3-carboxylate(9)의 합성** - Yield: 47%; mp: 182~184°C;  $R_f=0.88(\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} : \text{Toluene} : \text{Diethylamine} : \text{H}_2\text{O} = 5:5:2.5:1.9:1)$ ; IR(KBr) 3400, 2970, 1720, 1650, 1480  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO}-d_6)$ ,  $\delta$ : 1.20 (s, 9H), 1.29~1.41(m, 10H), 3.31-3.69(m, 12H),

4.50(q, 2H), 6.10(s, 2H), 7.10(d, 1H), 7.80(d, 1H), 8.87(s, 1H)

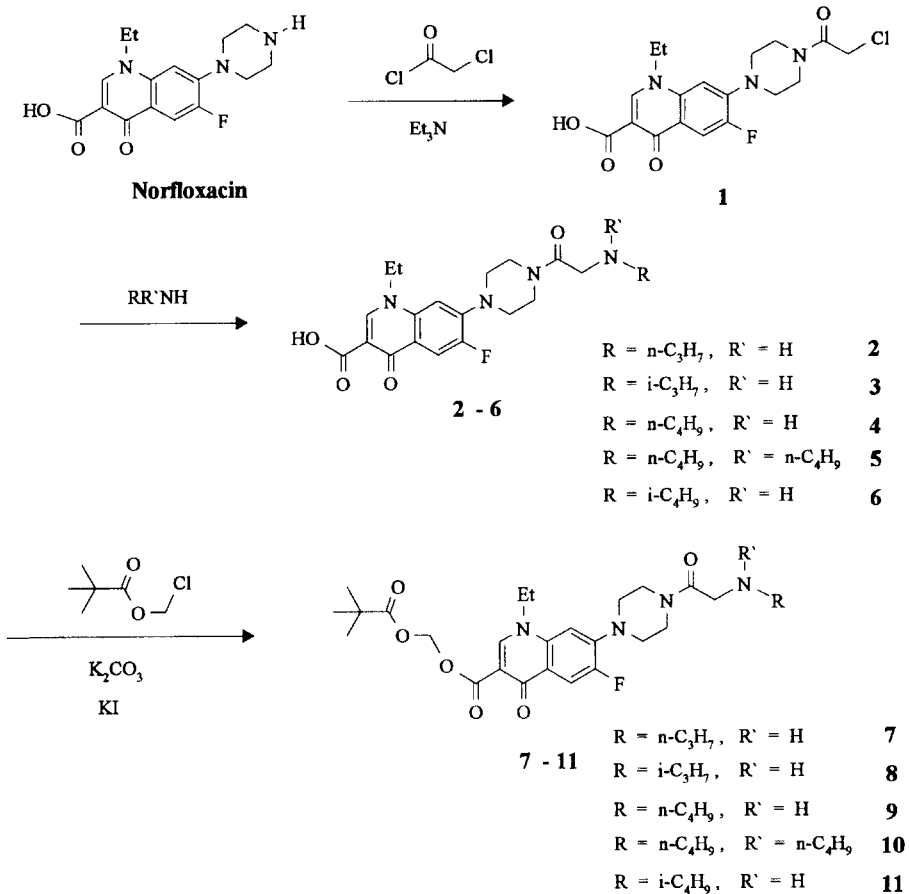
**Pivaloyloxymethyl 1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-N,N'-dibutylglycyl-1-piperaziny)quinoline-3-carboxylate(10)의 합성** - Yield: 50%; mp: 173~175°C;  $R_f=0.90(\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} : \text{Toluene} : \text{Diethylamine} : \text{H}_2\text{O} = 5:5:2.5:1.9:1)$ ; IR(KBr) 3450, 2960, 1730, 1650, 1480  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO}-d_6)$ ,  $\delta$ : 1.20(s, 9H), 1.28~1.52(m, 17H), 3.31~3.82(m, 14H), 4.50(q, 2H), 6.11(s, 2H), 7.20(d, 1H), 7.80 (d, 1H), 8.75(s, 1H)

**Pivaloyloxymethyl 1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-N-isobutylglycyl-1-piperaziny)quinoline-3-carboxylate(11)의 합성** - Yield: 52%; mp: 172~175°C;  $R_f=0.91(\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} : \text{Toluene} : \text{Diethylamine} : \text{H}_2\text{O} = 5:5:2.5:1.9:1)$ ; IR(KBr) 3420, 2980, 1730, 1640, 1475  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO}-d_6)$ ,  $\delta$ : 1.20(s, 9H), 1.31~1.47(m, 10H), 3.30~3.82(m, 12H), 4.50(q, 2H), 6.10(s, 2H), 7.10(d, 1H), 7.80(d, 1H), 8.80(s, 1H)

**균주** - 합성화합물의 항균시험에는 다음 6종의 균주를 사용하였다.: *Eschericia coli* 6-PE-4, *Staphylococcus aureus* HCA-79110, *Bacillus subtilis* 74-51, *Klebsiella pneumoniae* JYA-78314, *Proteus vulgaris* 78615, *Pseudomonas aeruginosa* 8765-1P2

**배지** - 상기 균주에 대한 합성화합물의 항균효과를 관찰하기 위하여 nutrient broth(pH=7.2-7.4)를 기준 배지로 사용하였으며, 고압증기멸균(15LBS, 20분간)하여 4°C에 보관하였다.

**항균력 측정** - 합성한 각 화합물은 현탁제제로 Tween 80이 0.2% 함유된 polyethyleneglycol 400 (이하 P.E.G)에 현탁시켰으며, 각 합성화합물의 용매내의 최종 함유농도를 1 ml 당 500  $\mu\text{g}$ 으로 하여 이를 원액으로 하였다. 멸균 시험관내에 nutrient broth를 각각 2 ml씩 취한 후, 상기 조제원액을 2 ml 씩 가하여 최고 농도의 것으로 하고 이를 nutrient broth로 배수희석하였다. 여기에 실험 24~28시간 전에 배양한 각 균액의 100배 희석액을 2 ml씩 접종한 후, 37°C에서 48시간 배양하였고, 균의 발육여부는 균을 접종하지 않은 각 농도의 합성화합물의 희석액과 비교하여 육안으로 관찰하였으며, 합성화합물들의 항균작용은 norfloxacin 및 solvent



**Scheme 1** – Synthesis of quinolone carboxylates.

control과 비교 관찰하였고, 그 결과는 Table I에 표시하였다.

### 실험결과 및 고찰

Norfloxacin을 chloroacetyl chloride으로 처리하여 92%의 수율로 chloroacetyl norfloxacin(1)을 합성한 후, DMF용액 중에서 alkylamines와 반응시켜서 quinolone carboxylic acids(2-6)를 41~74%의 수득률로 합성하였고, 이 화합물들을 KI와 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 존재하에 pivaloyloxymethyl chloride와 반응하여 pivaloyloxymethyl quinolone carboxylates(7-11)를 43-54%의 수득률로 합성할 수 있었다(Scheme 1).

본 실험에서 합성한 10종의 화합물에 대하여 norfloxacin를 대조약물로 하여 *in vitro*에서 실시한 항균시험결과를 고찰하면 다음과 같다. *E. coli*에 대하여

화합물(6)은 15.6 µg/ml의 농도에서 균의 발육을 억제하였고, *S. aureus*에 대하여 화합물(7)과 (8)은 3.9 µg/ml의 농도에서 균의 발육을 억제하였다. *B. subtilis*에 대하여 화합물 (4-6), (9)은 1.95 µg/ml의 농도에서 균의 성장을 억제하였고, *K. pneumoniae*에 대하여 화합물(2-6), (11)은 15.6 µg/ml의 농도에서 균의 발육을 억제하였다. *P. vulgaris*에 대하여 화합물 (4)와 (5)은 3.9 µg/ml의 농도에서 균의 발육을 억제하여 대조약물인 norfloxacin과 유사한 항균력을 나타내었으나, *Ps. aeruginosa*에 대하여 화합물(2)은 1.95 µg/ml의 농도에서 균의 발육을 억제하였다. 분자내 free carboxyl 기를 갖는 quinolone carboxylic acid analogues(2-6)는 대응하는 구조의 pivaloyloxymethyl ester analogues(7-11)보다 대등하거나 다소 상승된 항균력을 보여주었다. spacer의 변화에 따른 항균력의 변화는 quinolone carboxylic acids의 경우 alkyl chain이 길어질수록 다소

**Table I** – Antimicrobial activities of synthssized compounds (2-11) (MIC, µg/ml)

	<i>E. coli</i> 6-PE-4	<i>S. aureus</i> HCA79110	<i>B. subtilis</i> 74-51	<i>K. pneumoniae</i> JYA-78314	<i>P. vulgaris</i> 78615	<i>Ps. aeruginosa</i> 8765-1P2
2	31.25	31.25	7.8	15.6	15.6	1.95
3	31.25	15.6	3.9	15.6	7.8	31.25
4	31.25	7.8	1.95	15.6	3.9	31.25
5	62.5	7.8	1.95	15.6	3.9	62.5
6	15.6	7.8	1.95	15.6	7.8	31.25
7	62.5	3.9	3.9	31.25	15.6	125
8	31.25	3.9	7.8	31.25	31.25	62.5
9	31.25	15.6	1.95	31.25	15.6	62.5
10	31.25	7.8	15.6	62.5	31.25	62.5
11	31.25	7.8	15.6	15.6	31.25	62.5
Norfloxacin	3.9	0.018	0.49	0.25	3.9	0.49

항균력의 증가를 나타내었다.

## 문 헌

- 1) Koga, H., Itoh, A., Murayama, S., Suzue, S. and Irikura, T.: Structure-activity relationships of antibacterial 6,7- and 7,8-disubstituted 1-alkyl-1,4-dihydro-4-oxoquinoline-3-carboxylic acids. *J. Med. Chem.* **23**, 1358 (1980).
- 2) Campoli, D. M., Monk, J. P., Price, A., Benfield, P., Todd, P. A. and Ward, A.: Ciprofloxacin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs*, **35**, 373 (1988).
- 3) Sato, K., Matsuura, Y., Inoue, M., Une, T., Osada, Y., Ogawa, H. and Mitsuhashi, S.: In vitro and in vivo activity of DL-8280, a new oxazine derivative. *Antimicrob. Agents Chemother.* **22**, 548 (1982).
- 4) Matsumoto, J., Miyamoto, T., Minamida, A. and Nishimura, Y.: Synthesis and structure-activity relationships of 1,6,7-trisubstituted 1,4-dihydro-4-oxo-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acids, including enoxacin, a new antibacterial agent. *J. Med. Chem.* **27**, 292 (1984).
- 5) Gonzalez, J. P. and Henwood, J. M.: Pefloxacin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs*, **37**, 628, (1989).
- 6) Wentland, M. P., Bailey, D. M., Cornett, J. P., Dobson, R. A. Powles, R. G. and Wagner, R. B.: Novel amino-substituted 3-quinolinecarboxylic acid antibacterial agents: synthesis and structure-activity relationships. *J. Med. Chem.* **27**, 1103 (1984).
- 7) Barry, A. L., Jones, R., N., Thornsberry, C., Ayers, L. W., Gerlach, E. H. and Sommers, H. M.: Antibacterial activities of ciprofloxacin, norfloxacin, oxolinic acid, cinoxacin, and nalidixic acid. *Antimicrob. Agents Chemother.* **25**, 633 (1984).
- 8) Neu, H. C. and Labthavikul, P.: In vitro activity of norfloxacin, a quinolinecarboxylic acid, compared with that of beta-lactams, aminoglycosides, and trimethoprim. *Antimicrob. Agents Chemother.* **22**, 23 (1982).