

化學療法劑 合成研究 II *

N,N-Disubstituted Thiourea Derivatives의

合成 및 그 抗菌性과 抗人結核性

趙 允 成 · 高 光 浩**

(Received May 10, 1971)

Yun Sung Chough and Koang Ho Ko: Synthetic Studies on Chemotherapeutic Agents. II. Synthesis and Antibacterial and Antitubercular Activity of N,N'-Disubstituted Thiourea Derivatives.

Fourteen novel N,N'-disubstituted thiourea derivatives were synthesized by Hagershof reaction. Antitubercular activities of ten compounds against *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇R_V were tested and was found that 1-cyclohexyl-3-(4-benzenesulfonepiperidide)-2-thiourea was considerably active at 1mg/ml and 1- α -naphthyl-3-(4-benzenesulfonepiperidide)-2-thiourea was slightly active at 1mg/ml. Antibacterial activity of the newly synthesized compounds against *E.coli*, *Sta. aureus* and *Streptococcus hemolyticus* were also tested. 1-cyclohexyl-3-(4-benzenesulfonepiperidide)-2-thiourea was makedly active against *E. coli*, *Sta. aureus* and *Streptococcus hemolyticus*: Phenol coefficients against *E. coli*, *Sta. aureus* and *Streptococcus hemolyticus* were 30, 17.5 and 21.3, respectively. 1, 1'-*p*-phenylene-3, 3'bis [N-(2-thiazolyl)-sulfamylphenyl]-2, 2'-dithiourea and 1- α -naphthyl-3-(4-benzenesulfonepiperidide)-2-thiourea were considerably active against *E.coli*: phenol coefficients, 18.8 and 37.5 respectively. 1-(4-ethoxyphenyl)-3-(4-sulfamylphenyl)-2-thiourea was active against *Streptococcus hemolyticus*: phenol coefficients, 22.5. 1- α -naphthyl-3-(4-sulfamylphenyl)-2-thiourea, 1- β -naphthyl-3-[4-N-(2-thiazolyl)-sulfamylphenyl]-2-thiourea and 1- α -naphthyl-3-(4-benzenesulfonepiperidide)-2-thiourea were active against *Sta. aureus*: phenol coefficients, 17.5, 20.0 and 18.8 respectively.

1958年 Doub 等¹⁾이 phenylthiourea 誘導體: N₁-*p*-acetylthiourea, N₁-*p*-aminophenyl-N₂-methylthiourea 等の 化合物이 *in vitro* 및 *in vivo*에서 antitubercular 및 antibacterial activity

* 第一報, 本誌, 15, 83 (1971)

**College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul, Korea.

를 나타냄을 보고하였다. Wiles 등²⁾은 benzenesulfonepiperidide group을 함유하는 thiourea 誘導體; 1-methyl-3-(4-benzenesulfonepiperidide)-2-thiourea, 1-phenyl-3-(4-benzenesulfonepiperidide)-2-thiourea 등의 化合物이 *in vivo*에서 *Chaetomium globosum* 및 *Aspergillus niger*에 對하여 發育 억제作用을 나타냄을 報告했으며, Sijpestein 등³⁾은 *p*-phenylenediisothiocyanate가 fungicidal action을 나타냄을 報告했고, Huebner⁴⁾, Mayer⁵⁾, Buu-Hoi⁶⁾, Youman⁷⁾, Quyen⁸⁾ 등에 의해서 thiocarbanilide 誘導體; N,N'-bis(*p*-ethoxyphenyl)-thiourea, N,N'-bis(*p*-butoxyphenyl)-thiourea, N,N'-bis(*p*-buthylphenyl)-thiourea 등의 化合物이 *in vivo*에서 antitubercular, antileprotic 및 antibacterial activity를 나타냄이 報告 되었고, Cuong⁹⁾, Glasser¹⁰⁾ 등은 halogenated thiocarbanilide 誘導體; N- α -naphthyl-N'-(3-chloro-4-methoxyphenyl)-thiourea, 2-bromo-5-methoxy-4-ethoxythiocarbanilide, 3,5-dichloro-4'-fluoro thiocarbanilide 등의 化合物 및 heterocyclic thiourea 誘導體; N-phenyl-N'-(2-pyridyl)-thiourea, N-(α -naphthyl)-N'-(2-pyridyl)-thiourea 등의 化合物이 antitubercular 및 antibacterial activity가 있음을 報告했다. Wilkinson, Shepherd 등은 dextro-2,2'-(ethylenediimino)-di-1-butanol이 一般的인 抗人結核菌性 및 streptomycin, isonicotinyldiazide 및 *p*-aminosalicylic acid 등에 耐性을 갖는 人結核菌에 현저한 antitubercular action이 있음을 報告했으며 이때의 抗人結核作用 機轉으로 이들 化合物의 chelate 化態을 지적하고 있다. Foye, Baraheim, Cymerman, Craig, Rubbo, Bönicke 등은 抗結核性 化合物인 isonicotinyldiazide, *p*-aminosalicylic acid 및 streptomycin 등의 抗結核作用 機轉은 이들 化合物이 지니는 chelate 化態과 어떤 상관성이 있음을 지적했다.

따라서 本 研究者는 benzenesulfonepiperidide group, sulfanylpiperidyl group, *p*-phenylenediamine 등을 함유하며 chelate 化가 가능한 thiourea 계통의 新 化合物 14種을 合成하였으며, 이들의 *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇R_v에 對한 *in vitro* 抗人結核 試驗과 *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* 및 *Streptococcus*에 對한 抗菌試驗을 施行하여 얻은 結果 및 *in vitro* phenol coefficient를 報告하는 바이다.

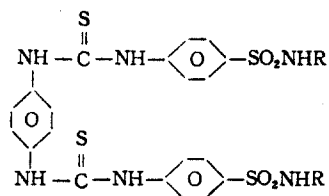
實驗 方法 및 結果

合成, 1-*p*-Phenylene-3,3'-bis(4-benzenesulfonepiperidide)-2,2'-dithiourea (I) — 4-Aminobenzenesulfonepiperidide 1.2g(0.005M)과 *p*-phenylene diisothiocyanate 0.48g(0.025M)을 Ac₂CO 15ml에 녹여 sealed tube에 넣고 수욕에서 12시간 반응시키면 침전 생성, 여과후 침전을 Me₂CO와 Et₂O로 씻고, H₂O-DMF의 혼합용매에서 재결정. 등황색 침전 0.5g 얻음.

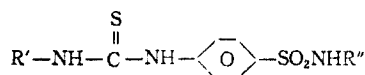
이외의 13種 化合物도 전혀 동일한 방법으로 常壓에서 Me₂CO 또는 MEK를 反應溶媒로 사용하여 각각의 isothiocyanate에 여러가지 aromatic amine들을 반응시켜 合成하였다. 이때 Soxhlet extractor를 사용하였으며 extractor의 flask에는 반응용매에 녹인 일정량(0.005M)의 각 isothiocyanate를 넣고 filter paper amine들을 넣은 후 수욕에서 환류시켜 생성된 침전을 여과, Me₂CO과 MEK로 씻고 再結晶하였다.

이상 14種 化合物에 對한 m.p., 재결정용매, yield, 元素分析值 등을 표시하면 Table과 같다.

Table I—N, N'-disubstituted thiourea derivatives.



	R	Solvent	React. time (hrs)	m.p. (C°)	Recry. Solvent 재결정용매	Yield	Formula	Analysis N(%)	
								Calcd.	Found
I	piperidyl	Me ₂ CO	12	248-9	DMF-H ₂ O	30	C ₃₀ H ₃₆ N ₆ O ₄ S ₄	12.50	13.02
II	H	NEK	5	217-9	DMF-H ₂ O	56	C ₂₀ H ₂₀ N ₆ O ₄ S ₄	15.67	15.27
III	2-thiazolyl	Me ₂ CO	10	210-2	DMF-H ₂ O	77	C ₂₆ H ₂₂ N ₆ O ₄ S ₄	11.97	12.22
IV	2-pyrimidyl	MEK	5	267-8	DMF-H ₂ O	23	C ₂₈ H ₂₄ N ₁₀ O ₄ S ₄	20.23	20.63
V	2-(4-methyl)-pyrimidyl	MEK	3	206-9	DMF-H ₂ O	80	C ₃₀ H ₂₈ N ₁₀ O ₄ S ₄	18.70	18.51



	R'	R''	Solvent	React. time	m.p.*	Yield	Formula	Analysis N(%)	
								Calcd.	Found
VI	β -naphthyl	2-pyrimidyl	MEK	6	272-4 ^a	46	C ₂₁ H ₁₇ N ₅ O ₂ S ₂	15.84	16.22
VII	α -naphthyl	piperidyl	Me ₂ CO	11	268-71 ^a	57	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₂ S ₂	9.88	9.72
VIII	β -naphthyl	piperidyl	Me ₂ CO	14	142-3 ^a	24	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₂ S ₂	9.88	10.13
IX	phenyl	piperidyl	Me ₂ CO	12	277-9 ^b	52	C ₁₈ H ₂₇ N ₃ O ₂ S ₂	12.39	12.31
X	4-EtOC ₆ H ₄	H	MEK	9	184-6 ^a	85	C ₁₅ H ₁₇ N ₃ O ₃ S ₂	11.97	11.43
XI	β -naphthyl	H	MEK	6	143-5 ^c	40	C ₁₇ H ₁₅ N ₃ O ₂ S ₂	11.77	11.72
XII	β -naphthyl	2-thiazolyl	Me ₂ CO	4	227-9 ^c	59	C ₂₀ H ₁₆ N ₄ O ₂ S ₃	12.73	12.61
XIII	α -naphthyl	H	Me ₂ CO	11	180-2 ^a	67	C ₁₇ H ₁₅ N ₃ O	11.77	11.35
XIV	α -naphthyl	2-thiazolyl	Me ₂ CO	8	175-8 ^c	36	C ₂₇ H ₁₆ N ₄ O ₂ S ₃	12.73	13.10

* Recrystallized from a, DMF-H₂O; b, DMF-EtOH; c, H₂O.

抗人結核試驗——新合成物 10種 및 isonicotinyl hydrazine을 각각 희석하여 ml당 1 μ g, 10 μ g, 100 μ g 및 1000 μ g이 함유되도록 만든 Ogawa medium에 *Mycobacterium tuberculosis*-H₃₇Rv를 接種하여 37°C에서 2개월간 배양한 결과는 Table II와 같다.

Table II—Activity against *M. tuberculosis*.

Comp.No.	1	10	100	1000 (mg/ml)
I	++++	++++	++++	++++
II	++++	++++	++++	++++
III	++++	++++	++++	++++
IV	++++	++++	++++	++++
V	++++	++++	++++	++++
VI	++++	++++	++++	++++
VII	++++	++++	++++	++++
VIII	++++	++++	++++	++++
IX	++++	++++	++++	—
X	++++	++++	++++	++++
INAH	—	—	—	—
Control	++++	++++	++++	++++

++++ ; full growth, — ; no growth

抗菌試驗— Beef extract 5g, pepton 5g, 식염 10g, 증류수 1l를 넣고 가열 용해시켜 여과한 후 pH6.8로 조절하고 시험관에 10ml씩 분주하여 121°C에서 20분간 멸균하여 배지를 만들고, m.p. 40°C 이상의 순수한 phenol을 사용하여 5% 수용액을 만들고, Table I에 표시한 化合物중 9種을 취하여 5% 원액을 만들어 이로부터 임의의 희석액을 멸균 증류수로 만든다. 물에 不溶性인 化合物은 균의 발육에 아무런 지장을 주지 않는 농도의 H₂O-DMF (5:1) 혼합액에 녹여 만든다.

각각의 化合物과 phenol의 각 희석액을 멸균 시험관에 정확히 10ml를 가하고 20°C의 온탕에 넣는다. 또 *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus*의 시험균 배양액 1ml를 제1 작용시험관에 균액이 관벽에 묻지 않게 조심하면서 한번에 가하고 잘 진탕한다. 제1 작용 시험관에 균액을 넣은 순간부터 정확히 2.5분, 5분, 10분, 15분 후에 한번씩 멸균白金耳로 제1 작용 시험관으로부터 1白金耳를 취한다. phenol coefficient의 계산법은 常法에 의하였으며 그 결과는 Table III과 같다.

Table III—Phenol coefficients.

Comp.No.	<i>E.coli</i>	<i>Strepto. hemolyticus</i>	<i>Sta. aureus</i>	Comp.No.	<i>E.coli</i>	<i>Strepto. hemolyticus</i>	<i>Sta. aureus</i>
I	3.8	7.6	7.6	VII	11.3	5.0	3.8
II	6.3	8.8	3.8	VIII	30.0	21.3	17.5
III	18.8	5.0	11.3	X	10.0	22.5	11.3
IV	3.8	15.0	7.6	XI	7.5	5.0	3.8
V	5.0	11.3	7.6	XII	8.8	16.3	20.0
VI	6.3	6.3	8.8	XIII	6.3	7.6	17.5
VII	37.5	13.5	18.8	XIV	6.3	10.0	6.3

考 察

Benzenesulfonepiperidide group 를 함유한 thiourea계통 化合物중 分子內에 *p*-phenylene-diamine group 및 β -naphthylamine 을 함유한 化合物은 抗人結核作用이 없는 반면, 分子內에 cyclohexylamine 및 α -naphthylamine 을 함유한 化合物은 抗人結核作用을 나타내었다.

Benzenesulfonepiperidide group 를 함유한 thiourea 계통 化合物 중 分子內에 cyclohexylamine 및 α -naphthylamine 을 함유한 化合物은 *E.coli*, *Streptococcus hemolyticus* 및 *Staphylococcus aureus* 에 대하여 상당한 抗菌作用을 나타낸 반면 分子內에 *p*-phenylene diamine 및 β -naphthylamine 을 함유한 化合物은 抗菌作用을 나타내지 않았으며 α -naphthylamineurea을 함유한 thiourea 계통 化合物중 分子內 N-(2-thiazolyl)-sulfamylphenyl group 를 함유한 化合物이 抗菌作用을 나타내지 않는 반면 分子內에 sulfamylphenyl group 를 함유한 化合物은 *Sta. aureus*에 대하여 抗菌作用을 나타내었고, β -naphthylamine 을 함유한 thiourea 계통 化合物중 分子內에 N-(2-thiazolyl)-sulfamylphenyl group 를 함유한 化合物이 *Strepto. hemolyticus* 및 *Sta. aureus*에 대하여 抗菌作用을 나타낸반면 分子內에 sulfamylphenyl group 를 함유한 化合物은 抗菌作用을 나타내지 않았다.

p-phenylene diamine을 함유한 thiourea 유도체중 分子內에 N-(2-thiazolyl)-sulfamylphenyl group 를 함유한 化合物은 *E.Coli*에 대하여 抗菌作用을 나타낸 반면, 分子內에 sulfamylphenyl, N-(2-pyrimidyl)-sulfamyl phenyl 를 갖는 化合物은 抗菌作用이 없었다.

이상의 結果에서 볼때 구조적으로 chelate 化가 가능한 1,1'-*p*-phenylene-3,3'-bis-[4-N-(2-thiazolyl)-sulfamyl phenyl]-2,2'-dithiourea가 抗菌作用을 나타낸 것은 이 化合物의 chelate 化能과 어떤 상관성이 있거나 또는 sulfonamide group 자체에 의한 作用, 즉 *p*-aminobenzoic acid와의 competitive inhibitory action 등에 의한 것이라고 생각되며, 그 외에 抗菌作用 또는 抗結核作用을 나타내는 化合物에서는 이들 化合物들이 共通적으로 함유하는 thiourea 골격의 効果가 여러가지 구조적 條件下에서 有效하게 나타난 것이라고 생각된다.

結 論

化學療法劑 對象物로서 14種의 新 thiourea系 유도체를 合成하였으며, 이들의 *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇R_v, *Sta.aureus*, *Streptococcus hemolyticus* 및 *E. coli* 등에 대한 抗人結核試驗 및 抗菌試驗을 遂行하였다.

1-cyclohexyl-3-(4-benzenesulfonepiperidide)-2-thiourea 는 *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇R_v 에 대해서 1mg./ml에서 현저한 菌發育억제作用을 나타내었으며 1- α -naphthyl-3-(4-benzenesulfonepiperidide)-2-thiourea 는 1mg./ml 에서 약간의 菌發育 억제作用을 나타내었다.

1,1'-*p*-phenylene-3,3'-bis[4-N-(2-thiazolyl)-sulfamylphenyl]-2,2'-dithiourea, 1- α -naphthyl-3-(4-benzenesulfonepiperidide)-2-thiourea 및 1-cyclohexyl-3-(4-benzenesulfonepiperidide)-2-thiourea 등은 *E.coli*, 에 대해서 강한 菌發育억제作用을 나타내었으며, 1-cyclohexyl-3-(4-benzenesulfonepiperidide)-2-thiourea 및 1-(4-ethoxyphenyl)-3-(4-sulfamylphenyl)-2-thiourea. 등은 *Streptococcus hemolyticus*에 대해 菌發育 억제作用을 나타내었고, 1- α -naphthyl-3-(4-

benzenesulfonepiperidide)-2-thiourea, 1-cyclohexyl-3-(4-benzenesulfonepiperidide-2-thiourea, 1- β -naphthyl-3-[4-N-(2-thiazolyl)-sulfamylphenyl]-2-thiourea, 1- α -naphthyl-3-(4-sulfamylphenyl)-2-thiourea 등은 *Staphylococcus aureus* 에 대해 菌發育抑制作用을 나타내었다.

本研究를 遂行함에 있어서 抗人結核試驗을 맡아서 해주신 聖母病院 中央檢査室 李 鍾武 教授, 抗菌試驗을 도와주신 가톨릭醫大 微生物學教室 李 淵台 教授, 崔尙圭 先生, 高 光均 先生, 結核菌株를 주신 國立保健研究 柳 在根 先生, 合成實驗에 助力해 주신 李明杰, 張仁洙 및 藥效學教室員 一同께 감사드립니다.

文 獻

1. L.Doub, *et al.*, *J.Am.Chem. Soc.*, **80**, 2205 (1958)
2. D.M.Wiles and T.Suprunchuk, *J.Med.Chem.*, **12**, 526 (1969)
3. A.K. Sijpestein, G.J.M.van der Kerk, and H.L. Kloopping, *Rec.trav. Chim.*, **71**, 1179 (1952)
4. C.F.Huebner, *et al.*, *J.Am.Chem.Soc.*, **75**, 2274 (1953)
5. R.L.Meyer, *et al.*, *Proc. Soc.Exptl.Biol.*, **82**, 769 (1953)
6. N.P.Buu-Hoi, *et al.*, *Compt.rend.*, **237**, 498 (1953)
7. G.P.Youmans, *et al.*, *Am. Rev.tuberc.*, **77**, 203 (1957)
8. C.K.Quyen, *et al.*, *Bull.Acad.Natl.Med.*, **280**, 535 (1960)
9. D.G.Cuong, *et al.*, *J.Med.Chem.*, **6**, 452 (1963)
10. A.C.Glasser and R.M.Doughty, *J.Pharm. Sci.*, **51**, 1031(1962); *J.Med.Chem.*, **9**, 351 (1966)
11. Arthur Furst, "Chemistry of Chelation in Cancer," Thomas (1963)
12. G.J.van Gissen and H.G.Petering, *J.Med.Chem.*, **11**, 695 (1968)
13. R.G. Wilkinson, R.G.Shepherd, J.P.Thomas and C.Baughn, *J.Am. Chem.Soc.*, **83**, 2212 (1961)
14. W.O.Foye, *J.Am.Pharm.Assoc.*, **44**, 415 (1955)
15. F.Bernheim, *J.Biol.Chem.*, **143**, 383 (1942)
16. J.Cymerman-Craig and S.D.Rubbo, *Nature*, **178**, 34 (1955)
17. J.Cymerman-Craig and S.D.Rubbo. *Naturforsch.*, **50**, 190 (1950)
18. R.Boenicke and W.Reif, *Beitr. Klin. Tuberkulose.*, **107**, 379 (1952)
19. *J.Bact.*, **55**, 11 (1948)
20. *J.Bact.*, **56**, 253 (1948)
21. *U.S.Public Health Rev.*, **63**, 1305 (1948)
22. 朴 等, 대한의학협회지, **1**, 283 (1967)