

Benzoxazolin-2-thione 과 PAS 의 Alkyl Ester 과의 Mannich Base 合成 및 抗菌力에 關한 研究

鄭源根 · 鄭商憲 · 鄭必根* · 尹元榮** · 李南馥**

(Received December 4, 1974)

Won Keun Chung, Sang Hun Chung, Pil Keun Chung*, Won Yung Yoon**
and Nam Bok Lee**: Syntheses of Mannich Base of Benzoxazolin-2-thione
and Alkyl Ester of PAS and Their Antimicrobial Activities.

Abstract—Nine benzoxazolin-2-thione derivatives were synthesized as the potential antimicrobial substances. These compounds were tested for the antimicrobial activities using *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* by way of tube dilution method. The three compounds of I, II and VII inhibited the growth of *S. aureus* at the concentration of $1\mu\text{g/ml}$, and III, VI, VIII and IX exhibited considerable antimicrobial activities against *S. aureus* at the concentration of $10\mu\text{g/ml}$. As to the growth of *E. Coli*, VII VII and VIII inhibited at the concentration of $1\mu\text{g/ml}$. II, III and IV exhibited considerable antimicrobial activities against *E. coli* at the concentration of $10\mu\text{g/ml}$.

Benzoxazole 系 化合物(Scheme 1)은 *in vitro* 에서 優秀한 抗菌作用을 發現하는 것으로 널리 알려져 있다. Benzoxazolinone(I) 誘導體는 抗痙攣作用 및 抗菌作用을 나타내는 것으로 報告¹⁻³⁾ 되어 있으며, benzothiazolin-2-thione(II)과 2-alkylmercaptobenzothiazole誘導體는 抗結核作用⁴⁾, 抗痙攣作用⁵⁾ 및 抗菌作用⁶⁻⁹⁾을 發現한다고 報告되고 있다. 또한 benzoxazolin-2-thione(III) 誘導體는 抗菌作用¹⁰⁻¹²⁾, 利尿作用¹³⁾, 抗結核作用¹⁴⁾, 血糖減少作用¹⁵⁾ 및 副交感神經抑制作用¹⁶⁾이 報告되고 있다.

한편 *p*-aminosalicylic acid (PAS)는 1941년 Lehmann¹⁷⁾에 의하여 結核治療劑로 처음 發見된 이래 오늘 날에도 單獨 또는 INAH 및 streptomycin과 併用하여 一次結核治療劑로 使用되고 있다. 그러나 PAS는 長期복용으로 因한 耐性發見, 胃腸障害 및 體內에서 迅速히 代謝¹⁸⁾되고 排泄¹⁹⁾되며 많은 量이 protein과 結合²⁰⁾하므로써 그 有效量이 作用部位에 到達하

From the College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul, Korea.

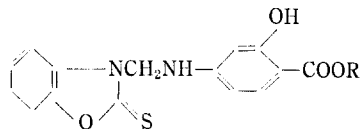
* Graduate School, Sung-Kyun Kwan University.

** Il Dong Pharmaceutical Co. Ltd.

Benzoxazolin-2-thione 1.51g(0.01 mole)과 PAS 또는 PAS의 alkyl ester(0.01 mole)을 20 ml의 EtOH에懸濁 또는溶解시킨 다음水浴上에서還流시키면서 37% formaldehyde水溶液 2ml를加하고 5分間還流시킨 다음室溫에서一夜放置하였다. 反應液中에生成된 침전을濾取하여 acetone으로再結晶하여 Table I에表示된新化合物 9種을合成하였다.

本實驗에서 얻은合成物質의元素分析結果(Table I)는許用誤差以內이며 IR分析結果는化合物 I의 경우, ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} 3700~2200(broad, NH, OH, COOH), 1615(C=O), 1590, 1540(C_6H_4), 化合物 IV와 IX는 ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} 3320(NH, OH), 1625(C=O), 1590, 1540(C_6H_4), 1475, 1385(CH_2 , CH_3), 1240, 1150 (ester linkage)에서 흡수대를認知할 수 있었으며 IR分析結果分子內에서 OH와 C=O間에水素結合을 하고 있다고 思料된다.

Table I—3-(N'-3'-hydroxy-4'-alkoxycabronylphenyl) aminomethylbenzoxazolin-2-thiones.



Compd. No.	R	Mp	Appearance*	Yield (%)	Molecular formula	Analysis			
						Calcd.		Found	
						C	N	C	N
I	H	263(dec.)	Yellowish plate	37.4	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$	57.69	8.97	58.17	8.87
II	CH_3	197-199	Gray plate	81.1	$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$	58.89	8.58	58.40	8.40
III	C_2H_5	190-191	Gray plate	70.2	$\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$	59.99	8.23	59.40	8.20
IV	$\text{C}_3\text{H}_7(n)$	183-185	Gray plate	51.8	$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$	61.01	7.90	60.44	7.75
V	$\text{C}_3\text{H}_7(iso)$	194-195	White plate	36.6	$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$	61.01	7.90	60.75	8.09
VI	$\text{C}_4\text{H}_9(n)$	183-184	Gray plate	75.8	$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$	61.94	7.60	61.69	7.79
VII	$\text{C}_4\text{H}_9(iso)$	193-194	Gray plate	54.6	$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$	61.94	7.60	61.84	7.76
VIII	$\text{C}_5\text{H}_{11}(n)$	177-179	Gray plate	80.1	$\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$	62.81	7.14	62.24	7.24
IX	$\text{C}_5\text{H}_{11}(iso)$	184-185	Gray plate	78.1	$\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$	61.81	7.14	62.45	7.21

* Crystals were recrystallized in Me_2CO .

抗菌力 試驗

Table I에表示된合成物質 9種에對한 抗菌試驗을 PAS를 對照物質로 하여 試驗管稀釋法²⁹⁾에 따라 實施하였다.

培地——Nutrient broth medium.

試驗菌株——*Staphylococcus aureus* 및 *Escherichia coli*.

檢液의 調製——合成物質을 25mg을 N,N-dimethylformamide 25ml에溶解하여 N,N-dimethyl formamide로稀釋하여稀釋液 1ml中에 1,000 μg , 100 μg , 10 μg 이含有되도록 調製하였다.

對照液 調製——PAS 25mg을 25ml의 N, N-dimethylformamide에溶解시킨 다음 N, N-dimethylformamide로稀釋하여稀釋液 1ml中에 PAS 1,000 μg , 100 μg , 10 μg 이含有되도록 調製

하였다.

菌液——試驗菌을 nutrient broth medium 4.5ml中에서 48時間 培養한 菌液을 使用하였다.

試驗管 稀釋法에 依한 抗菌試驗——檢液과 對照液을 各各 濃度別로 0.5ml씩 試驗管에 取하고 여기에 上記 nutrient broth medium 4.5ml씩을 分注하여 잘 混合한 後 直徑 4mm의 白金耳를 使用하여 菌液을 3回 接種하여 incubator(37°)에서 2日間 培養하고 別途로 溶媒 및 培地만으로 試驗한 對照群과 比較하였다.

判定——合成物質 및 對照物質 投與에 依한 各 試驗管의 濁度 有無를 관찰하여 判定하였다. 그 結果는 Table II와 같다.

Table II—Antimicrobial test of synthesized compounds against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* by tube dilution method.

Compd. No.	Microorganisms					
	<i>S. aureus</i>			<i>E. coli</i>		
	100μg/ml	10μg/ml	1μg/ml	100μg/ml	10μg/ml	1μg/ml
I	+	+	+	--	-	-
II	+	+	+	+	+	-
III	+	+	-	+	+	-
IV	+	+	-	+	+	-
V	+	-	-	+	-	-
VI	+	-	-	+	-	-
VII	+	+	+	+	+	+
VIII	+	+	-	+	+	+
IX	+	+	-	+	+	+
PAS	+	+	-	+	+	-
Solvent	-	-	-	-	-	-

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

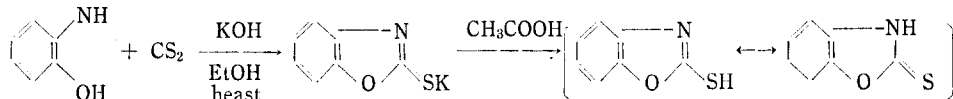
考 察

1) Benzoxazolin-2-thione의 合成은 Van Allan³⁰⁾의 方法에 따라 合成하였다. Alkyl *p*-aminosalicylate의 合成은 Drain²⁵⁾ 및 Kakemi²⁸⁾ 方法에 따라 合成하였다. 高溫(90°)에서는 PAS의 脫炭酸反應이 일어나 *m*-aminophenol이 生成될 수 있으므로 反應溫度는 85° 以下の 溫度를 維持함이 必要하다 (Scheme 2).

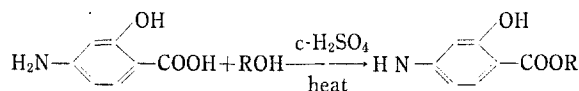
2) 抗菌試驗에 있어서 檢液 調製는 生理食鹽水 또는 滅菌蒸溜水를 使用함이 普遍的이나 本 實驗에서는 合成物質의 溶解度를 고려하여 N,N-dimethylformamide를 使用하였다. 檢液과 培地를 混合하였을 때 N,N-dimethylformamide는 10%(V/V)로서 空試驗을 試行한 結果, 菌의 發育에 아무런 影響을 주지 않았다.

3) 抗菌試驗 結果, *S. aureus*에 對하여는 化學構造와 抗菌作用間의 因果關係를 認知하기

어려우나 *E. coli*에 대하여는 alkyl group의 탄소 수가 증가 할 수록 抗菌作用도 增強되는 것으로 觀察되었다.



Course of the synthesis of benzoxazolin-2-thione.



Course of the syntheses of alkyl esters of PAS.

Scheme 2

結 論

1) 3-(3'-Hydroxy-4'-alkoxy carbonylphenyl) aminomethylbenzoxazolin-2-thione誘導體 9種을 合成하였다.

2) 抗結核劑로 使用되고 있는 *p*-aminosalicylic acid(PAS)를 對照物質로 하여 試驗管稀釋法에 依하여 抗菌力 試驗을 遂行한結果 *S. aureus*에 對하여 3-(3'-hydroxy-4'-hydroxy carbonylphenyl)aminomethylbenzoxazolin-2-thione, 3-(3'-hydroxy-4'-methoxycarbonylphenyl) aminomethylbenzoxazolin-2-thione과 3-(3'-hydroxy-4'-*iso*-butoxycarbonylphenyl) aminomethylbenzoxazolin-2-thione은 1 μ g/ml 濃度에서, 3-(3'-hydroxy-4'-ethoxycarbonyl phenyl) aminomethylbenzoxazolin-2-thione, 3-(3'-hydroxy-4'-*n*-propoxycarbonylphenyl) aminomethyl benzoxazolin-2-thione, 3-(3'-hydroxy-4'-*n*-amoxycarbonylphenyl) aminomethylbenzoxazolin-2-thione과 3-(3'-hydroxy-4'-*iso*-amoxycarbonylphenyl) aminomethyl benzoxazolin-2-thione은 PAS와 같은 10 μ g/ml 濃度에서 菌의 增殖을 阻止하며, *E. coli*에 對하여는 3-(3'-hydroxy-4'-*iso*-butoxycarbonylphenyl)aminomethylbenzoxazolin-2-thione, 3-(3'-hydroxy-4'-*n*-amoxycarbonylphenyl)aminomethylbenzoxazolin-2-thione과 3-(3'-hydroxy-4'-*iso*-amoxycarbonylphenyl)aminomethylbenzoxazolin-2-thione은 1 μ g/ml 濃度에서, 3-(3'-hydroxy-4'-methoxycarbonylphenyl)aminomethylbenzoxazolin-2-thione, 3-(3'-hydroxy-4'-ethoxycarbonylphenyl)aminomethylbenzoxazolin-2-thione은 PAS와 같은 10 μ g/ml濃度에서 菌의 增殖을 阻止함을 認知하였다.

本 研究를 遂行함에 있어 實驗 菌株을 分讓하여 주신 高麗大學校 醫科大學 李鎬旺教授님과 元素分析 및 分光分析을 도와 주신 서울大學校藥學大學 朴萬基專任講師에게 謝意를 表한다.

文 獻

1. A. Lespagnol, J. Mercier and C. Lespagnol, *Arch. Intern. Pharmacodyn.*, **94**, 211 (1953) [C.A., **48**, 1003f (1953)].
2. R.S. Varma and W.L. Nobbles, *J. Pharm. Sci.*, **57**, 39 (1968).
3. R.S. Varma, *J. Prakt. Chem.*, **315**, 350 (1973).
4. A. Moys, E. Schwartz, and G. Bloeckinger, *Bratislav Lekarke Listy*, **43-II**, 325 (1963) [C.A., **60**, 7351e (1964)].
5. V.G. Zapadnyuk, *Farm. Zh. (Kiev)*, **17**, 36 (1962) [C.A., **57**, 2341h (1962)].
6. A. Moys, G. Bloekinger and E.Schwartz, *Cesk. Dermatol.*, **39**, 269 (1964) [C.A., **61**, 15068 (1962)].
7. E.A. Kuznetsova, S.V. Zhuravlev, T.N. Steianova, V.N. Solov'ev and V.S. Zueva, *Khim. Farm. Zh.*, **1**, 7 (1967) [C.A., **67**, 90708 (1967)].
8. R.S. Varma, *J. Prakt. Chem.*, **314**, 955 (1972).
9. R.S. Varma, S.A. Imam and W.L. Nobbles, *J. Pharm. Sci.*, **62**, 140 (1973).
10. R.S. Varma and W.L. Nobbles, *ibid.*, **61**, 112 (1972).
11. L. Katz, and M.S. Cohen, *J. Org. Chem.*, **19**, 758 (1954).
12. R.S. Varma, *J. Pharm. Sci.*, **62**, 1390 (1973).
13. German pat., 940896 (1956) [C.A., **53**, 6253 (1959)].
14. M.Semonsky, J. Bartosova and J. Kunak, *Cesk. Farm.*, **7**, 385 (1958).
15. T. Chiba, *Yakugaku Zasshi*, **89**, 1138 (1969).
16. U.S. Pat., 2,820,042 (1958) [C.A., **52**, 10204 (1958)].
17. J. Lehmann, *Lancet*, **215**, 15 (1946).
18. M. Nakao, *J. Biochem.*, **44**, 327, 433, 477 (1957); *ibid.*, **45**, 457 (1958).
19. K. Alin and H. Difs, *Nord. Med.*, **33**, 151 (1947).
20. J. Gomi, *Saishin Igaku*, **32**, 1 (1957).
21. G.P. Youman, *J. Bacteriol.*, **54**, 409 (1947).
22. L.W. Hedgecock, *ibid.*, **75**, 345, 417 (1958).
23. R. Hirt and H. Hunri, *Helv. Chem. Acta*, **32**, 378 (1949).
24. D.J. Drain, *J. Pharm. Pharmacol.*, **1**, 784 (1949).
25. H. Bretschneider and W. Kloetzer, *Monat.*, **81**, 781(1950).
26. F. Fujikawa, K. Hirai and T. Hirayama, *Yagukagu Zasshi*, **92**, 1275 (1972).
27. 李, 本誌, **17**, 223 (1973).
28. K. Kakemi, T. Arita, S. Kitazawa, M. Kawamura, and H. Takenaka, *Chem. Pharm. Bull.*, **15**, 819 (1967).
29. C.H. Collins and P.M. Lyne, *Microbiological Methods*, 3rd edition, p-418.
30. J.A. Van Allan and B.D. Deacon, *Organic Synthesis, Coll. Vol. 4*, **1963**, p-569.