

Hydroxybiphenyl 유도체의 항균작용 (III) 충치균 *Streptococcus mutans*에 대한 *p*-Phenylphenol 유도체의 항균작용

배기환 · 서원준 · 박종태
충남대학교 약학대학

(Received December 20, 1990)

Antimicrobial Activities of Hydroxybiphenyl Derivatives (III) The Antibacterial Activities of *p*-Phenylphenol Derivatives against a Cariogenic Bacterium *Streptococcus mutans*

Ki-Hwan Bae, Won-Jun Seo and Jong-Tae Park
College of Pharmacy, Chungnam National University, Taejeon 302-764, Korea

Abstract—For the purpose of developing of anticariogenic agents, *p*-phenylphenol derivatives were synthesized and determined their antibacterial activities against a cariogenic bacterium, *Streptococcus mutans*. Among synthetic compounds, 2-nitro-6-bromo-*p*-phenylphenol showed as potent antibacterial activity as magnolol and honokiol.

Keywords □ *p*-phenylphenol derivatives, *Streptococcus mutans*

구강내의 여러 세균중 구강연쇄구균의 하나인 *Streptococcus mutans*(이하 충치균이라함)가 충치를 일으키는 주 원인균으로 밝혀진 이래^{2,3)} 충치 치료에 관한 연구가 많이 진행되어 오고 있다. 충치 치료제 개발을 목적으로 Namba 등⁴⁾은 일본후박(*Magnolia obovata*의 수피)으로부터 충치균에 대한 항균성분으로 hydroxybiphenyl 유도체인 magnolol 및 honokiol을 단리하였다. 이 물질들의 충치균에 대한 최소 저지농도는 6.3 µg/ml로서 지금까지 식물성분으로서 항균력이 우수하다고 알려진 berberine(MIC, 100 µg/ml)보다 항균력이 강한 물질이라 밝힌 바 있다. 저자 등⁵⁾은 magnolol과 honokiol의 화학구조와 항균력의 상관관계를 밝히기 위하여 magnolol의 유사체들을 합성, 항균력을 검토하여 보고한 바 있다. 즉, 출발물질로 선택한 hydroxybiphenol 유도체, *a,o'*-biphenol과 *p,p'*-biphenol의 충치균에 대한 항균력은 약했지만(MIC, 100 µg/ml 이상), 이 물질들에 allyl

기를 도입하면 항균력이 크게 증가하였고(MIC, 6.3-12.5 µg/ml), OH기를 acetylation 또는 benzylation 하면 항균력이 나타나지 않았다. 이러한 실험결과로부터 magnolol 및 honokiol의 OH기는 항균력의 발현에 필수적인 것으로, allyl기는 항균력의 증대에 크게 기여한다는 사실을 알게 되었다. 한편, Oikawa 등⁶⁾은 새로운 antibacterial agent를 개발하기 위하여 phenol에 nitro기, cyano기 및 acetyl기를 도입, 항균력을 검토한 결과, 일반적으로 nitro 유도체들이 다른 유도체들에 비하여 항균력이 강하다고 보고하였다. Cheng 등⁷⁾은 *o*-phenylphenol에 nitro기와 chloro기가 도입된 합성물질들이 항진균 효과와 제초효과가 있다고 보고하였다. 이런 점에 착안, 충치균에 대하여 항균력이 강한 물질을 창출할 목적으로 *p*-phenylphenol에 bromo기와 nitro기를 도입한 물질들을 합성, 충치균에 대한 항균력을 측정한 결과 강한 항균력을 나타내었기에 보고한다.

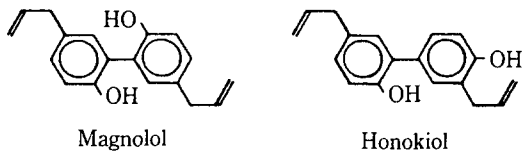


Fig. 1—The structures of magnolol and honokiol.

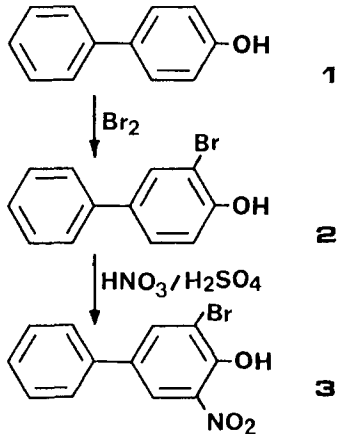


Fig. 2—Synthetic procedures of 2-bromo-*p*-phenylphenol (2) and 2-bromo-6-nitro-*p*-phenylphenol (3) started from *p*-phenylphenol (1).

실험방법

시약—*p*-phenylphenol(Aldrich), bromine(Junsei), nutrient broth(Difco). 그 외의 시약은 특급 또는 일급품을 사용하였다.

기기—IR spectrophotometer(Perkin-Elmer 783), NMR spectrometer(EM Varian 360), digital grating spectrophotometer(Cecil 393), Electrothermal melting point apparatus

2-bromo-*p*-phenylphenol의 합성(Fig. 2, compound 2)-Hazlet 등³⁾의 방법에 따랐다. 즉, 통풍장치 안에서 100 ml 삼두후라스크와 환류냉각기, 자석식교반기, 압력 평형식 분액여두를 수욕상에 장치하였다. 빙초산 용매중에 *p*-phenylphenol 1.7g(0.01 mol)과 미량의 철가루를 넣고 교반시키면서, 분액여두로부터 브롬 0.8g(0.01 mol)을 빙초산 용매와 같이 적하하면서 3 시간 반응시켰다. 반응액을 냉각시킨 후, 얼음물을 서서히 교반하면서 부어넣고 2시간 실온에서 방치, 생성된 백색 침전물을 여과, 찬물로 수회 세척하였다. 백색 침전물을 chloroform을 전개용매로 하여 silica

gel column chromatography로 정제하여 백색결정 1.62g을 얻었다(yield 65%).

2-bromo-6-nitro-*p*-phenylphenol(Fig. 2, compound 3)-Raiford 등⁹⁾의 방법에 따랐다. 100 ml의 삼두후라스크에 자석식 교반기, 환류냉각기, 압력식 분액여두를 장치하고, 빙옥상의 빙초산 용매중에서 2(1g, 0.004 mol)에 분액여두로부터 농질산 0.25g(0.004 mol, d : 1.38)을 30분간 적하 반응시키고, 후라스크를 수욕중으로 옮겨 반응액이 어두운 적색이 될 때까지 끓여주고 난뒤, 냉각, 반응액을 50 ml의 얼음물에 교반하면서 서서히 붓고 실온에서 2시간 방치하였다. 생성된 황색 침전물을 여과하고 냉수로 세척, 감압건조시켰다. 황색침전물을 chloroform을 전개용매로 하여 silica gel column chromatography로 정제하여 황색결정을 얻었다. 0.93g(0.003 mol, yield 75%).

항균실험—사용균주는 *Streptococcus mutans* OMZ 176(sero type d)으로서 계대 배양하여 사용하였다. 항균력은 Namba 등⁴⁾의 방법에 따라 disk plate method와 minimal inhibitory concentration(MIC)에 의해 측정하였다.

실험결과 및 고찰

합성물질의 동정—2-bromo-*p*-phenylphenol(Fig. 2, compound 2)-백색결정, mp. 67-8°, IR spectrum에서 3280 cm⁻¹의 aromatic OH stretch를, 672 cm⁻¹의 aromatic bromo stretch를 확인할 수 있었다. ¹H-NMR spectrum에서, 7.2-8.3 ppm의 aromatic proton을, 10.5 ppm의 phenolic OH를 singlet로 확인할 수 있었고, 두 proton의 적분치는 8 : 1이었다.

2-Bromo-6-nitro-*p*-phenylphenol(Fig. 2, compound 3)-황색결정, mp. 101-2°, IR spectrum에서 3270 cm⁻¹의 aromatic OH의 stretch를, 1540 및 1321 cm⁻¹에서 aromatic nitro기의 symmetric 및 asymmetric stretch를, 690 cm⁻¹의 aromatic bromo stretch를 확인할 수 있었다. ¹H-NMR spectrum에서 7.2-8.3 ppm의 aromatic proton을, 10.5 ppm의 phenolic OH를 singlet로 확인할 수 있었고, 두 proton의 적분치는 7 : 1이었다.

항균실험—disk plate법에 의한 항균력을 측정된 결과(Fig. 3), 출발물질 *p*-phenylphenol은 40 μg/disk 이하에서는 충치균에 대한 항균력이 없었고, 80 μg/

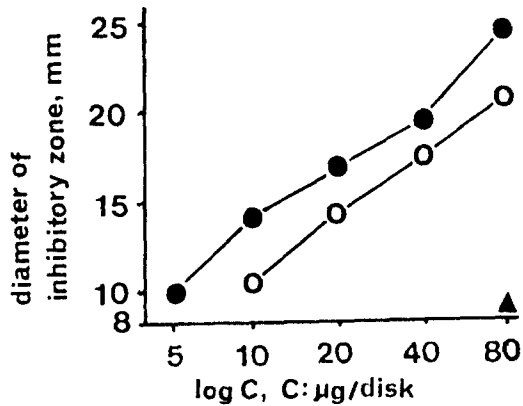


Fig. 3—The antibacterial activities of *p*-phenylphenol, 2-bromo-*p*-phenylphenol and 2-bromo-6-nitro-*p*-phenylphenol.

According to the paper disk method, the disks (8 mm in diameter) containing various amounts of the chemicals were placed on Petri dishes which had been seeded with *Streptococcus mutans*. The incubation was then carried out at 37° for 16 hours.

- ▲ : *p*-phenylphenol
- : 2-bromo-*p*-phenylphenol
- : 2-bromo-6-nitro-*p*-phenylphenol

disk 이상에서 항균력이 나타났다. 그런데 bromination에 의하여 얻은 2는 10, 20, 40 및 80 µg/disk에서 저지원이 각각 10.2, 13.2, 16.2 및 19.6 mm를 나타내었고, 3은 5 µg/disk에서 항균력이 나타나기 시작하여, 10, 20, 40 및 80 µg/disk에서 저지원이 각각 13.5, 16.4, 19.3 및 22.5 mm였다. 이러한 결과로부터, *p*-phenylphenol에 bromination 및 nitration에 의하여 생성된 물질들은 출발물질에 비해 항균력이 크게 증가되었음을 보여주고 있다. Oikawa 등⁶⁾은 phenol에 nitro기를 도입하므로써 항균력이 증대함은 전자주기 효과에 기인한다고 한다. 그러나 2는 bromo기가 도입된 것으로서, 전자 끌기효과가 있는 기도 항균력의 증가에 기여한다고 생각된다. bromo기와 nitro기가 함께 도입되어 있는 3의 항균력이 2보다 더 큰 것으로 미루어 볼 때 전자끌기 또는 주기효과보다는 Hamilton¹⁰⁾이 지적한대로 세포벽의 투과도에 영향을 주는 것으로 생각된다. 2와 3의 총치균에 대한 최소저지농도는 각각 12.5 및 6.3 µg/ml (Table I)로서, 전자는 magnolol과 honokiol의 항균력보다 약했고, 후자는

Table I—The minimal inhibitory concentration of *p*-phenylphenol, 2-bromo-*p*-phenylphenol, 2-bromo-6-nitro-*p*-phenylphenol and magnolol.

| Chemicals | MIC(µg/ml) |
|---|------------|
| <i>p</i> -phenylphenol | >100.0 |
| 2-bromo- <i>p</i> -phenylphenol | 12.5 |
| 2-bromo-6-nitro- <i>p</i> -phenylphenol | 6.3 |
| magnolol | 6.3 |

Incubated for 16 hours at 37° in BHI medium.

magnolol과 honokiol의 항균력과 같았다.

결 론

p-phenylphenol을 출발물질로 하여 bromination 및 nitration에 의하여 2종의 hydroxybiphenyl 유도체를 합성하고 총치원생세균인 *Streptococcus mutans*에 대한 항균력을 검토하였다. 그 결과 출발물질인 *p*-phenylphenol의 항균력에 비하여, 합성물질, 2-bromo-*p*-phenylphenol 및 2-bromo-6-nitro-*p*-phenylphenol의 항균력은 크게 증가되었다.

문 헌

- 1) Seo, W., Koo, S. and Bae, K. : Antimicrobial activities of hydroxybiphenyl derivatives (2). Synthesis and antibacterial activities of allylhydroxybiphenyl compounds against a cariogenic bacterium *Streptococcus mutans* OMZ 176. *Arch. Pharm. Res.* **9**, 127 (1986).
- 2) Inoue, M. and Koga, T. : Fractionation and properties of glucans produced by *Streptococcus mutans*. *Infect. Immunity* **25**, 922(1979).
- 3) Houte, J. van. : Bacterial specificity in the etiology of dental caries. *Int. Den. J.* **30**, 305(1980).
- 4) Namba, T., Tsunozuka, M., Bae, K. and Hattori, M. : Studies on dental caries prevention by traditional chinese medicine (1). Screening of crude drugs for antibacterial action against *Streptococcus mutans*. *Shoyakugaku Zasshi* **35**, 295(1981).
- 5) Seo, W., Koo, S. and Bae, K. : Antimicrobial activities of hydroxybiphenyl derivatives (2). Synthesis and antibacterial activities of allylhydroxybiphenyl compounds against a cariogenic bacterium *Strepto-*

- coccus mutans* OMZ 176. *Arch. Pharm. Res.* **9**, 127 (1986).
- 6) Oikawa, S., Tsuda, M., Endou, K., Abe, H., Matsuoka, M. and Nakajima, Y. : Structure-activity relationship for antibacterial action of phenolic and aromatic nitro compounds, An attempt at systematic identification of new antibacterial agents. *Chem. Pharm. Bull.* **33**, 2821(1985).
- 7) Cheng, H.M., Eto, M., Kuwatsuka, S. and Oshima, Y. and Kado, M. : Studies on the phenylphenol derivatives with biological activity. Fungistatic activity of phenylphenol derivatives. *Agr. Biol. Chem.* **32**, 1162(1968).
- 8) Hazlet, S.E. : The bromination of 4-phenylphenol benzenesulfonate. *J. Am. Chem. Soc.* **59**, 1087(1939).
- 9) Raiford, L. and Colbert, J.C. : 3-nitro-4-hydroxydiphenyl and some of its derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **7**, 1454(1925).
- 10) Hamilton, W.A. : Membrane-active antibacterial compounds. *Biochem. J.* **118**, 46(1970).