

## Dextran에 결합된 새로운 Quinolone계 항균제의 개발

김 선 일 · 나 재 운

조선대학교 공과대학 화학공학과  
(1994년 2월 21일 접수, 1994년 4월 21일 채택)

### Development of New Quinolone Antibacterials with Dextran-bond

Sun-Il Kim and Jae-Woon Na

Dept. of Chem. Eng., Chosun Univ., Kwangju 501-759, Korea

(Received February 21, 1994, Accepted April 21, 1994)

**요 약:** 방출조절성 약제를 개발하기 위한 방법으로 1-ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl) quinoline-3-carboxylic acid의 C<sub>3</sub> 위치를 Vilsmeier reagent로 chlorination하여 이를 dextran과 반응시켜 1-ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl) quinoline-3-carboxylic acid-dextran 중합체약을 합성하였다. 중합체약에 대한 최소 발육저지농도(MICs)로서 Gram 양성세균 *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Mycobacterium phlei* IFO 3158 및 *Salmonella typhimurium* KCTC 1925에 대해서 각각 5 µg/ml의 농도로 균의 발육을 억제하였다. *Micrococcus luteus* ATCC 9341에 대해서는 80 µg/ml로 약한 활성을 보였을 뿐, Gram 양성세균들에 대하여 전반적으로 강한 저항성을 보여주었다. Gram 음성세균인 *Escherichia coli* KCTC 1039, *Escherichia coli* ESS, *Klebsiella pneumoniae* KCTC 1560 및 *Pseudomonas aeruginosa* IFO 13130 균주들에 대해서도 각각 5 µg/ml로 대조물질과 유사한 항균성을 보여주었다. 한편, quinolone계 항균제가 진균류에 대하여 감수성을 보이지 않는 것처럼 중합체약도 진균인 *Candida albicans* ATCC 10231에 대해서는 감수성을 보여주지 않았다.

**Abstract:** 1-Ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl) quinoline-3-carboxylic acid-dextran was synthesized by the reaction of 1-ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl)quinoline-3-acryloyl chloride with dextran. Polymeric drug was tested for antimicrobial activity *in vitro* against ten species of microorganisms. Polymeric drug revealed good antibacterial activity against *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Mycobacterium phlei* IFO 3158, *Salmonella typhimurium* KCTC 1925, *Escherichia coli* KCTC 1039, *Escherichia coli* ESS, *Klebsiella pneumoniae* KCTC 1560 and *Pseudomonas aeruginosa* IFO 13130. Polymeric drug have no antimicrobial against *Candida albicans* ATCC 10231, but moderately active *Micrococcus luteus* ATCC 9341.

### 1. 서 론

생체 분해성 고분자로서 관심의 대상이 되고 있는 dextran은 sucrose를 함유한 media가 성장할 때 exocellularly bacteria에 의해 합성되어지는 물질로써, 1861년 Pasteur에 의하여 연구되었으며[1, 2],

1874년 Scheubler는 그 실험식을 결정하고 그것을 dextran이라고 명명하였다[3]. Dextran은  $\alpha$ -D-glucose 분자의 선형 고분자로서 박테리아의 종류와 생성과정에 따라 구조와 성질이 다르나[4], 일반적으로 95%의  $\alpha$ -(1, 6)결합의 주사슬과 5%의  $\alpha$ -(1, 3)결합의 결사슬을 가진 homopolysaccharide이다. Dex-

tran은 수용성 dextran과 불용성 dextran으로 나누어지는데, 수용성 dextran은  $\alpha$ -D-(1, 6)-glucopyranose를 골격 사슬로 하고 2, 3, 4위치의 탄소에 glucose branch가 있으며, branch의 linkage와 glucopyranosyl 잔기의 수에 따라서 물리화학적 성질이 다르게 나타난다[5]. 불용성 dextran은 filters, pipelines, stains와 tank의 choking에 이용되고, 또한 치아의 plague를 생성시키는 원인이 된다고 보고되었다[1]. 천연 dextran은  $5 \times 10^8$  정도의 분자량을 가지고 있으나 blood-plasma 대용품으로는 부적당하고, 상업제품인 clinical dextran은 blood-plasma dextran의 최적 분자량은 40,000~111,000인 선형 중합체로써 48시간 내에 urine으로 완전히 배설된다[5]. 이러한 성질 때문에 dextran은 drug carrier로서 널리 사용되는데, 그 중 분자량이 70,000 이상인 것은 혈장 증량제로서 사용되고, 혈액속에서는 cholesterol을 환원시키는 효과가 있음이 밝혀졌다. 또한 분자량이 40,000 이하의 것은 모세혈관의 혈류를 증진시키고, 인공체외의 혈류로도 사용되고 있다.

Quinolone계 항균제는 아직 개발 역사가 짧고 치료범위가 국한되어 광범위하게 사용되고 있지만 최근 새로운 유도체가 개발되어 치료영역을 확대해 가고 있다. Quinolone계 항균제라 함은 Naphthridine, Quinolone, Pyrido-Pyrimidine, Cinnoline과 같은 기본 골격의 화학 구조를 갖는 의약품을 말한다. Quinolone계 항균제는 1962년 미국의 Stering-Wintthrop 연구소의 Leshner[6] 등에 의해 1, 8-naphthridine 유도체인 nalidixic acid가 효시가 되었다. 1966년 Warner-Lambert사에서 Gram 음성세균과 일부 Gram 양성세균에 대한 항균력이 좋고 *in vitro test* 항균력이 nalidixic acid보다 2~4배 강한 요도염 치료제로 oxolinic acid[7]가 최초로 개발되었다. 그 후 Sumitomo사에서 oxolinic acid와 약효가 비슷한 miloxacin[8]을 개발했다. 1978년 Kyorin사에서는 녹농균을 포함한 Gram 음성 및 양성세균에도 강한 항균력을 갖고 있으며 호흡기, 비뇨기, 피부 및 연조직 감염증에 좋은 치료 효과를 나타내고, 특히 장내세균, 임균, 인플루엔자 등에 우수한 norfloxacin[9] 제제를 개발했다. 이처럼 quinolone계 항균제가 짧은 기간동안 괄목할 만한 발전과 집중적인 연구를 하게 된 동기는 penicillin계나 cepha계 항생제에 비해 합성이 용이하고, 그리고 제3세대 항생제와 비교하여 우수한 항균력을 지닌 물질들이 많이 합성되었으며, 또한 기

존의 penicillin계나 cepha계 항생제의 내성균 발현을, 사용의 복잡성 등 여러 가지 단점을 보완할 수 있다는 점이다[10-12]. 그러나 현재까지 알려진 저분자량 항생 및 항균물질은 우리 체내에 머무를 수 있는 시간이 제한되어 있어 보통 필요 이상의 양을 섭취하거나 약효가 연속적이 되도록 수 시간마다 약을 먹어야 하는데 여러 가지 부작용이 야기될 위험이 있다. 이와 같은 문제점의 해결방법으로 중합체약에 대한 관심이 집중되고 있다. 중합체약[13]은 활성의 지속적인 효과를 기대할 수 있으며, 또 용해도와 확산의 변화 등에 의해 약 자체의 활성의 변화나 증감이 예상된다. 한편, 최근 순환혈중에 존재하는 고분자-항암제 복합체(즉, divinyl ethermaleic acid [DIVEMA], divinyl ethermaleic acid-5-fluorouridine [DIVEMA-5-FUR], divinyl ethermaleic acid-cytosine arabinoside [DIVEMA-araC])는 암병소에서 선택적으로 혈관외로 유출, 축적되어 표적인 암세포에 효율적으로 도달되는 drug delivery system (DDS)인데, 이러한 종양조직의 특성을 이용한 국소 및 전신투여에 의한 targeting 방법으로 항암성 항생물질인 mitomycin C를 수용성 dextran에 공유결합시킨 고분자 prodrug인 mitomycin C-dextran 복합체는 국소투여 후 주입부위에 장기간 체류하여 서서히 mitomycin을 방출하여 정상조직에 상해를 나타내지 않고 우수한 항종양 효과를 나타냄이 확인되었다[14].

이에 저자는 지속성 있는 항균제의 개발에 목적을 두고, 1-ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl) quinoline-3-carboxylic acid(이하 norfloxacin이라 칭함)의 C<sub>3</sub> 위치를 Vilsmeier reagent [15, 16]로 chlorination하여 이를 dextran과 반응시켜 얻은 1-ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl) quinoline-3-carboxylic acid-dextran(이하 norflo-dextran이라 칭함) 중합체약에 대하여 항균력을 실험하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 그 결과를 보고하고자 한다.

## 2. 실험

### 2.1. 시약 및 기기

Dextran( $M_w$  9300)과 3-chloro-4-fluoroaniline, diethyl ethoxymethylene malonate, biphenyl, phenyl ether, ethyl bromide, piperazine, bromoethane은 미

국 Sigma Chemical Co.와 Aldrich Chemical Co.의 GR급 제품을 사용하였다. N, N-dimethylformamide, pyridine, potassium carbonate는 일본 Junsei Chemical Co. 제품 등이며, 기타의 시약들은 특급 또는 일급시약을 사용하였다.

실험에 사용한 기기는 Infrared spectrophotometer (Shimadzu Co. IR-440), Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy(Bruker Co. WP-80 Sy.), Melting Point Apparatus(Fisher-Johns Co. FP-5), Differential Scanning Calorimeter(Mettler Co. DSC-30)를 사용하였다.

## 2. 2. 실험방법

Quinolone계 유도체 화합물들(1~5)은 이미 알려진 방법[17]을 수식하여 합성하였다. 또한 화합물(5)의 C<sub>3</sub> 위치를 acid chloride로 만들고 이것을 dextran과 반응시켜 원하는 중합체(6)를 얻었다(Scheme 1). 중합체(6)에 대한 항균시험은 2단계 액체 배지 희석법으로 균주 10종을 사용하였으며, 대조물질로는 norfloxacin 항균제를 사용하였다.

### 2. 2. 1. Quinolone계 유도체의 합성법

7-Chloro-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-quinoline-3-carboxylic acid ethyl ester(2)의 합성

3-Chloro-4-fluoroaniline 5.0g(0.035mole)과 diethyl ethoxymethylenemalonate 7ml(0.035mole)을 200ml 삼구 flask에 넣고 120°C에서 2시간 동안 환류 반응시켰다. TLC를 통해 생성물인 diethyl 4-fluoro-3-chloroanilinemethylenemalonate(1)이 합성되었음을 확인한 다음 Dowthem A 용매(biphenyl-phenyl ether cosolvent) 47.5ml을 가하여 250°C에서 2시간 동안 cyclization 시켰다. 반응이 완결된 것을 TLC로 확인한 다음 냉각하여 생성된 반응물을 여과하였다. 이 에스테르 화합물을 증류수와 methanol로 3회 세척하여 실온에서 진공 건조시켜 회백색 고체 8.12g을 얻었다.

7-Chloro-1-ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-quinoline-3-carboxylic acid ethyl ester(3)의 합성

200ml 삼구 flask에 DMF 50ml를 넣고 교반하면서 7-chloro-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-quinoline-3-carboxylic acid ethyl ester 6.67g(0.025mole)과 potassium carbonate 3.46g(0.025mole)/ethyl bro-

mid 9ml(0.124mole)를 가한 다음 40°C에서 6시간 동안 반응시켰다. 반응이 완결됨을 TLC로 확인한 다음 냉각하여 화합물을 여과하고 이 여액을 증류수에 소량씩 떨어뜨려 침전물을 생성시켰다. 생성된 침전물을 여과하여 증류수로 3회 세척하여 실온에서 진공 건조시켜 백색 고체 6.53g을 얻었다.

7-Chloro-1-ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-quinoline-3-carboxylic acid(4)의 합성

200ml 삼구 flask에 7-chloro-1-ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-quinoline-3-carboxylic acid ethyl ester 5.60g(0.02mole)과 2N-NaOH 22ml을 넣고 90°C에서 2시간 동안 환류 반응시킨 다음 60°C에서 6N-HCl을 적가하여 pH 2.0~1.5로 하였다. 이때 생성된 침전물을 여과하여 증류수와 methanol로 3회 세척하여 실온에서 진공 건조시켜 백색 고체 4.79g을 얻었다.

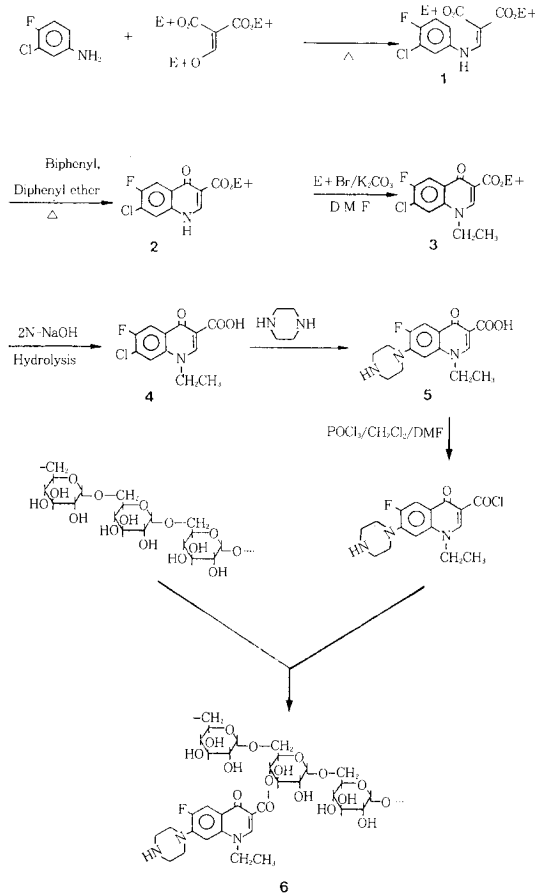
1-Ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl) quinoline-3-carboxylic acid(5)의 합성

200ml 삼구 flask에 7-chloro-1-ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-quinoline-3-carboxylic acid 4.17g(0.015mole)과 piperazine 9.29g(0.108mole)을 넣고 pyridine 13ml을 가하여 120°C에서 6시간 동안 환류 반응시켰다. 반응이 완결된 것을 TLC로 확인한 다음 냉각하여 생성된 반응물을 1/3 정도까지 감압농축하여 증류수 10ml을 넣어 용해시키고, acetic acid를 가해 pH 7.0으로 하여 생성된 침전물을 여과하여 증류수와 소량의 methanol로 3회 세척하여 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH로 재결정하여 실온에서 진공 건조시켜 유백색 고체 3.79g을 얻었다.

### 2. 2. 2. 중합체(6)의 합성

1-Ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl)quinoline-3-carboxylic acid-dextran(6)의 합성

분자량이  $\bar{M}_w$ 9,300인 dextran을 15g 취해서 3차 증류수 1000ml에 용해시킨 후 실온에서 5시간 동안 교반시켰다. 이 용액에 absolute methanol 2000ml를 넣고 36시간 방치한 후 gel상의 dextran을 얻었다. 이 gel상의 dextran을 2N-NaOH에 용해시킨 후 cellulose 막을 통하여 3일 동안 투석시킨 다음 냉동 건조시켜 순수한 dextran을 얻었다. 건조된 dextran 2.38g(0.015mole)을 DMSO 1ml에 용해시켜 실온에서 30분 동안 교반하였다(A 용액). 따로 DMF 1.28ml



Scheme 1. Route of synthesis.

(0.016mole)와  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  25ml를 혼합한 용액을  $-10\sim 0^\circ\text{C}$ 로 냉각시키고 교반하면서  $\text{POCl}_3$  1.53ml(0.016mole)를 적가하였다. 여기에 norfloxacin 4.02g(0.015mole)을 넣고 실온에서 6시간 교반하였다(B용액).

A용액에 syringe를 사용하여 B용액을 서서히 적가하여  $0^\circ\text{C}$ 에서 1시간 교반한 다음 더욱 실온에서 2시간 교반 반응시켰다. 이 용액을 1/3 정도까지 감압 농축하여 아세톤에 소량씩 떨어뜨려 생성된 침전물을 약 1시간 동안 교반하고 건냉암소에 10시간 동안 방치하였다. 방치된 침전물을 교반 여과하여 아세톤으로 충분히 씻은 다음 methanol로 재결정하여 실온에서  $\text{P}_2\text{O}_5$  존재하 감압건조시켜 황백색 고체 5.29g을 얻었다.

### 2.2.3. 항균력 시험

시험균주—Gram 양성균 5종 *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Mycrobacterium phlei* IFO 3158, *Salmonella typhimurium* KCTC 1925, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, Gram 음성균 4종 *Escherichia coli* KCTC 1039, *Escherichia coli* ESS, *Klebsiella pneumoniae* KCTC 1560, *Pseudomonas aeruginosa* IFO 13130, 진균 1종 *Candida albicans* ATCC 10231을 시험균으로 사용하였다.

*Escherichia Coli* ESS 균주는 Cephamycine C에 고도의 감수성을 갖는 변이주로서 미국 MIT(Dept. of Applied Biological Sciences)의 Dr. A. Demain으로부터 분양받았다. *Salmonella typhimurium* KCTC 1925 균주는 Penicillin 감수성 변이주이며, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 균주는 Penicillin에 다소간 내

성을 갖는 균주이다. *Escherichia coli* ESS를 제외한 9종의 시험균은 KIST\*, 유전공학센터에서 분양받은 균주들이다.

배지-Brain heart infusion 30g, Peptone 5g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  1g/ℓ의 조성으로 이루어진 배지를 사용하였으며 고체 평판 배지 제조시에는 Bacto agar 20g을 액체 배지 1ℓ에 첨가하였다.

항균활성 측정법-항균력 실험은 전보[18]와 동일한 방법으로 하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3. 1. Quinolone계 유도체의 구조분석

7-Chloro-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-quinoline-3-carboxylic acid ethyl ester(2)의 구조확인

3-Chloro-4-fluoroaniline과 diethyl ethoxymethylenemalonate로부터 enamine 화합물(1)을 합성하고, 이것을 cyclization하여 화합물(2)를 88.6%의 수득률로 얻었다. 녹는점은 310~312°C로써 문헌치[17]와 일치하였다(Table 1).

IR 스펙트럼에서  $C_3$  위치에 protecting된 에스테르 결합의  $C=O$  신축진동이 1695 $cm^{-1}$ 와 N-H 신축진동이 3150 $cm^{-1}$ 에서 특성 흡수 peak가 나타나 합성이 되었음을 알 수 있었고,  $^1H-NMR$  스펙트럼의 경우 1.49~1.66ppm에 나타난 peak는 methyl group( $-CH_2CH_3$ ) 내의 3H에 의해 형성된 것이며, 4.60~4.88ppm은 methenyl group( $-CH_2CH_3$ ) 내의 2H에 의해 형성된 특성 peak들을 볼 수 있었다.

IR(KBr) $cm^{-1}$ : 3150(N-H), 2907~2986(aliphatic C-H), 1695( $C=O$ ), 1616( $C=O$ ), 1551(aromatic  $C=C$ ), 1273(aromatic  $C-O$ );  $^1H-NMR(CF_3COOD-d_1)\delta$ : 1.49~1.66(t, 3H,  $-CH_2CH_3$ ), 4.60~4.88(q, 2H,  $-CH_2CH_3$ ), 8.08~8.40(m, 2H, quinolone ring  $C_5, 8-H$ ), 9.30(s, 1H, quinolone ring  $C_2-H$ ).

7-Chloro-1-ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-quinoline-3-carboxylic acid ethyl ester(3)의 구조확인

$N_1$  위치에 ethyl기를 도입한 화합물(3)를 88.7%의 수득률로 얻었고, 녹는점은 141~143°C로 Table 1과 같이 문헌치[17]와 일치하였다.

IR 스펙트럼에서 에스테르 결합의  $C=O$  신축진동의 특성흡수 peak가  $N_1$  위치의 ethyl기 때문에

1718 $cm^{-1}$ 로 chemical shift되어 나타났으며, 3150 $cm^{-1}$ 의 N-H 신축진동이 없어졌다.  $^1H-NMR$  스펙트럼의 경우 1.48~1.89ppm에 나타난 peak는  $N_1$  위치와  $C_3$  위치의 methyl group( $N_1-CH_2CH_3$  &  $C_3-CH_2CH_3$ ) 내의 6H에 의해 형성된 것이며, 4.59~5.08ppm은 methenyl group( $N_1-CH_2CH_3$  &  $C_3-CH_2CH_3$ ) 내의 4H에 의해 형성된 proton 면적비의 증가로 확인할 수 있었다.

IR(KBr) $cm^{-1}$ : 3050(aromatic C-H), 2830~2900(aliphatic C-H), 1718( $C=O$ ), 1550(aromatic  $C=C$ ), 1266( $C-O$ );  $^1H-NMR(CF_3COOD-d_1)\delta$ : 1.48~1.89(m, 6H, 2 $CH_3$ ), 4.59~5.08(m, 4H, 2 $CH_2$ ), 8.39~8.50(q, 2H, quinolone ring  $C_5, 8-H$ ), 9.40(s, 1H, quinolone ring  $C_2-H$ ).

7-Chloro-1-ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-quinoline-3-carboxylic acid(4)의 구조확인

화합물(3)의 에스테르기를 염기성 가수분해하여 화합물(4)를 94.7%의 높은 수득률로 얻었고, 녹는점은 284~285°C로 문헌치[17]와 일치하였다(Table 1).

IR 스펙트럼에서  $C_3$  위치 COOH의 -OH 신축진동의 특성 흡수 peak가 2500~3427 $cm^{-1}$ 에서 broad하게 나타났고,  $C=O$  신축진동의 흡수 peak가 1719 $cm^{-1}$ 에서 확인되었다.  $^1H-NMR$  스펙트럼의 경우 1.75~1.93ppm과 4.84~5.01ppm의 proton 공명 스펙트럼이 저자장 영역으로 chemical shift되어 나타났으며, 에스테르화의 ethyl( $C_3-CH_2CH_3$ )기의 proton peak가 없어짐을 볼 수 있어, 가수분해가 이루어진 것을 확인할 수 있었다.

IR(KBr) $cm^{-1}$ : 2500~3427(OH), 3100(aromatic C-H), 1719( $C=O$ ), 1611( $C=O$ ), 1543(aromatic  $C=C$ ), 1220~1269( $C-O$ ), 800~750(oop C-H);  $^1H-NMR(CF_3COOD-d_1)\delta$ : 1.75~1.93(t, 3H,  $-CH_2CH_3$ ), 4.84~5.01(q, 2H,  $-CH_2CH_3$ ), 8.42~8.45(q, 2H, quinolone ring  $C_5, 8-H$ ), 8.90(s, 1H, quinolone ring  $C_2-H$ ).

1-Ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl) quinoline-3-carboxylic acid(5)의 구조확인

화합물(5)를 75.2%의 수득률로 얻을 수 있었고, 녹는점은 227~228°C로 문헌치[17]와 일치하였다(Table 1).

IR 스펙트럼에서  $C_7$  위치 aliphatic C-H 신축진동

Table 1. Properties of Quinolone Compounds

Compound	Yield, wt%	Melting Point, °C
2	88.6(70)*	310~312(>300)*
3	88.7(90)	141~143(142~143)
4	94.4(90)	284~285(284~285)
5	75.2(66)	227~228(227~228)
6	82.7	256.9**

\*The values shown in the parentheses are from the references 7, 9

\*\*DSC peak temperature

의 특성 흡수 peak가 2850~2992 $\text{cm}^{-1}$ 에서, C=O 신축진동의 흡수 peak가 1626 $\text{cm}^{-1}$ 로 chemical shift 되어 나타나 합성이 이루어졌음을 알 수 있었다.  $^1\text{H-NMR}$  스펙트럼의 경우 화합물(4)에 없었던 piperazine(- $\text{CH}_2$ )의 8개의 proton peak가 3.85~4.03ppm 범위에서 형성된 것으로 보아 화합물(5)의 구조를 확인할 수 있었다.

IR(KBr) $\text{cm}^{-1}$ : 2500~3419(OH), 3050(aromatic C-H), 2850~2992(aliphatic C-H), 1711(C=O), 1626(aromatic C=O), 1538(C=C), 1270(C-O);  $^1\text{H-NMR}(\text{CF}_3\text{COOD}-d_1)$   $\delta$ : 1.72~1.89(t, 3H, - $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 3.85~4.03(m, 8H, piperazine  $\text{CH}_2$ ), 4.77~5.04(q, 2H, - $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 7.49~8.42(q, 2H, quinolone ring  $\text{C}_5$ , s-H), 9.33(s, 1H, quinolone ring  $\text{C}_2$ -H).

### 3.2. 중합체약의 구조분석

1-Ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl) quinoline-3-carboxylic acid-dextran(6)의 구조확인

화합물(5)의  $\text{C}_3$  위치를 vilmsmeier reagent로 chlorination하여 이를 dextran과 반응시켜 norflo-dextran 중합체약을 82.7%의 수득률로 얻었고, 녹는점은 256.9°C (DSC peak)였다.

IR 스펙트럼에 의하면 2500~3419 $\text{cm}^{-1}$ 에서 norfloxacin의 -OH의 peak가 없어졌으며 3100~3427 $\text{cm}^{-1}$  사이에서 dextran의 -OH의 peak가 chemical shift 되어 broad하게 나타났다. Norfloxacin에서 carbonyl group peak는 1711 $\text{cm}^{-1}$ 의 -COOH와 1626 $\text{cm}^{-1}$ 의 aromatic ring C=O peak가 형성되는데, 합성된 중합체약에서는 1704 $\text{cm}^{-1}$ 에서 -C=O의 특성 흡수 peak가 나타난 것으로 보아 norfloxacin의 -COOH가 -CO-O-로 합성되어 있음을 정성적으로 보여주었다.  $^1\text{H-NMR}$  스펙트럼의 경우 1.39~1.44ppm에 나타난

peak는 methyl group( $\text{N}_1$ - $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ) 내의 3H에 의해 형성된 것이며, 4.69~4.94ppm에 나타난 peak는 methenyl group( $\text{N}_1$ - $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ) 내의 2H와 dextran의 haworth form( $1'$ -H) 내의 1H에 의해 형성된 것이다. Dextran의 haworth form에 위치한 2'~5'-H peak들이 3.21~3.52ppm 사이에서 나타났고, 3' 4'-OH peak들은 4.55~4.62ppm 사이에서 형성되었으나, 같은 범위에서 2'-OH의 proton 면적비 감소로 중합체약이 합성되었음을 확인할 수 있었다.

IR(KBr) $\text{cm}^{-1}$ : 3100~3427(OH), 3050(aromatic C-H), 2850~2937(aliphatic C-H), 1704(C=O), 1630(aromatic C=O), 1483(C=C), 1270(C-O), 1010(C-O-C);  $^1\text{H-NMR}(\text{CF}_3\text{COOD}-d_1)$   $\delta$ : 1.39~1.44(t, 3H, - $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 2.88~2.91(t, 2H, 6'- $\text{CH}_2$ ), 3.21~3.32(m, 2H, 4'5'-H), 3.41~3.52(m, 2H, 2'3'-H), 3.64~3.77(m, 8H, piperazine  $\text{CH}_2$ ), 4.55~4.62(m, 2H, 3'4'-OH), 4.69~4.94(q, 2H, - $\text{CH}_2\text{CH}_3$  & 1H, 1'-H), 7.12~7.90(q, 2H, quinolone ring  $\text{C}_5$ , s-H), 8.93(s, 1H, quinolone ring  $\text{C}_2$ -H).

### 3.3. 항균력 판정

각각의 시험균주들을 검정 plate에 접종하여 37.0  $\pm$  0.5°C에서 18시간 배양 후 2배씩 단계적으로 희석하였다. 접종한 plate를 일렬로 나열하여 육안으로 관찰하여 성장이 억제된 항균제의 최소 발육 저지 농도(Minimum Inhibitory Concentrations, MIC)를 정하였다.

Norflo-dextran 중합체약에 대한 MIC<sub>5</sub>(Table 2)는 Gram 양성세균인 *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Mycobacterium phlei* IFO 3158 및 *Salmonella typhimurium* KCTC 1925의 균주들에 대해서 대조물질인 norfloxacin과 비교하여 각각 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 균의 발육을 억제하였으나 *Micrococcus luteus* ATCC 9341에 대해서는 80  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 8배 약한 활성을 보였을 뿐, Gram 양성 세균들에 대하여 전반적으로 중합체약에 강한 저항성을 보여주었다. Gram 음성세균인 *Escherichia coli* KCTC 1039, *Escherichia coli* ESS, *Klebsiella pneumoniae* KCTC 1560 및 *Pseudomonas aeruginosa* IFO 13130 균주들에 대해서도 각각 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 대조물질과 비교하여 유사한 항균성을 보여주었다. 한편, quinolone계 항균제가 진균류에 대하여 감수성을 보이지 않는 것처럼 norflo-dextran 중합체약도 진균인 *Can-*

**Table 2.** MICs ( $\mu\text{g/ml}$ ) of Synthetic Compound and Commercial Antibiotics Against Representative Microorganisms

Strains	Sample	Reference <sup>c</sup>	Norflo-dextran <sup>d</sup>
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 (+) <sup>a</sup>		5	5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (+)		5	5
<i>Mycrobacterium phlei</i> IFO 3158 (+)		5	5
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341 (+)		10	80
<i>Salmonella typhimurium</i> KCTC 1925 (+)		5	5
<i>Escherichia coli</i> KCTC 1039 (-) <sup>b</sup>		5	5
<i>Escherichia coli</i> ESS (-)		5	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KCTC 1560 (-)		5	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 13130 (-)		5	5
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231		>80	>80

<sup>a</sup> Gram positive, <sup>b</sup> Gram negative, <sup>c</sup> Norfloxacin, <sup>d</sup> 1-Ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl) quinoline-3-carboxylic acid-dextran.

*Candida albicans* ATCC 10231에 대해서는 감수성을 보여주지 않았다.

Domagala[19] 등에 의하면 C<sub>3</sub> 위치에 carboxylic acid 대신 keton, amide, ester, hydrazide, nitrile, thioacid 등 여러 다른 유도체가 만들어졌지만 항균력이 전혀 없거나 약하게 나타나는 것으로 알려져 있다. 그러나 본 연구에서처럼 생체분해성 고분자인 dextran이 결합된 quinolone계 항균제가 대조물질과 유사한 약효가 유효하다는 점을 감안할 때 본 연구에서 합성된 norflo-dextran 중합체약은 방출 조절성 제제로 이용 가능성이 양호한 결과임을 알 수 있었고, 앞으로 약물방출실험과 *in vivo* 실험을 통하여 고분자 의약품의 성능평가가 행해져야 할 것으로 사료된다.

#### 4. 결 론

방출 조절성 약제를 개발하기 위한 방법으로 1-

ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl) quinoline-3-carboxylic acid의 C<sub>3</sub> 위치를 Vilsmeier reagent로 chlorination하여 이를 dextran과 반응시켜 1-ethyl-6-fluoro-1, 4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl) quinoline-3-carboxylic acid-dextran 중합체약을 합성하였다. 중합체약에 대한 최소 발육 저지 농도(Minimum Inhibitory Concentrations)로서 Gram 양성균 *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Mycrobacterium phlei* IFO 3158 및 *Salmonella typhimurium* KCTC 1925에 대해서 각각 5  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 균의 발육을 억제하였으며, *Micrococcus luteus* ATCC 9341에 대해서는 80  $\mu\text{g/ml}$ 로 8배 약한 활성을 보였을 뿐, Gram 양성세균들에 대하여 전반적으로 중합체약에 강한 저항성을 보여주었다. Gram 음성세균인 *Escherichia coli* KCTC 1039, *Escherichia coli* ESS, *Klebsiella pneumoniae* KCTC 1560 및 *Pseudomonas aeruginosa* IFO 13130 균주들에 대해서도 각각 5  $\mu\text{g/ml}$ 로 대조물질과 비교하여 유사한 항균성을 보여주었다. 한편, quinolone계 항균제가 진균류에 대하여 감수성을 보이지 않는 것처럼 중합체약에서도 진균인 *Candida albicans* ATCC 10231에 대해서는 감수성을 보여주지 않았다.

#### 감 사

본 논문은 1992년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었습니다.

#### 참고문헌

1. R. L. Sidebotham, *Dextrans*, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **30**, 371(1984).
2. L. Pasteur, *Bull. Soc. Chem.* (Paris), 30(1961).
3. C. Scheubler, *Z. Ver. Dtsch. Zucker-Lnd.*, 24 (1874).
4. E. J. Hehre, F. R. Senti, and N. N. Hellonan, *J. Biol. Chem.*, **222**, 759(1956).
5. J. A. Moore, "Polymer Science and Technology," Vol. 21, 752~755, Plenum(1984).
6. G. Y. Leshner, E. J. Froelich, E. D. Gruett, J. H. Bailey, and P. R. Brundaga, *J. Med. Chem.*, **5**, 1063(1962).

7. Y. Goueffon, G. Montay, F. Roquet, M. Pesson, and C. R. Hebd, *Seances Acad. Sci.*, **297**, 37 (1981).
8. H. Agui, T. T. Mitani, A. Izawa, and T. Nakagome, *J. Med. Chem.*, **20**, 791(1977).
9. R. Albrecht, *Prog. Drug Res.*, **21**, 9(1977).
10. M. Imamura, S. Shibamura, I. Hayakawa, and Y. Osda, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **29**, 163 (1986).
11. I. Hayakawa, M. Imamura, Shibamura, and Y. Osda, *ibid.*, **31**, 325(1986).
12. Ofloxacin, *Annu. Drug Data Rep.*, **7**, 807(1985).
13. S. G. Donaruma and O. Vogl, "Polymeric Drugs," 162~163, Acad. Press, New York (1979).
14. Y. Takakura, S. Matsumoto, M. Hashida, and H. Sezaki, *Cancer Res.*, **44**, 2505(1984).
15. T. Takata, H. Takasugi, T. Masugi, T. Chiba, H. Kochi, T. Takano, and H. Nakano, *Chem. Soc. (Japan)*, **5**, 2505(1984).
16. J. S. Park, K. Y. Kim, and E. K. Ryu, *Yakhak Hoeji*, **32**, 222(1984).
17. H. Koga, A. Itoh, S. Murayama, S. Suzue, and T. Irikura, *J. Med. Chem.*, **23**, 1358(1980).
18. S. I. Kim, W. S. Cha, J. W. Na, Y. H. Kim, and O. H. Ko, *J. of the Chem. Soc.*, **36**, 282(1992).
19. R. Wise, J. M. Andrews, and L. Edwards, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **23**, 559(1983).