

N-치환 Glycyl Norfloxacin 유도체의 합성과 항균작용

이현수 · 임채욱 · 임철부*
중앙대학교 약학대학 약학과

Synthesis and Antimicrobial Activity of N-Substituted Glycyl Derivatives of Norfloxacin

Hyun Soo LEE, Chaek IM and Chul Bu YIM*

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

(Received May 31, 1999; accepted June 22, 1999)

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 compound was reacted with alkyldiamines to afford bivalent ligand quinolone carboxylic acids (2-6), which was added to pivaloyloxymethyl chloride to give bivalent ligand pivaloyloxymethyl quinolone carboxylates (7-11). Chloroacetyl norfloxacin (1) treated with alkylamines to obtain monovalent ligand quinolone carboxylic acids (12-15), which was reacted with pivaloyloxymethyl chloride to get monovalent ligand pivaloyloxymethyl quinolone carboxylates (16-19). Free carboxylic quinolones (2-6, 12-15) showed little stronger activities to their pivaloyloxymethyl esters (7-11, 16-19). In monovalent ligand quinolone analogues, longer alkyl chain compounds showed stronger activities than shorter one.

Keywords □ Norfloxacin, Bivalent ligand, Monovalent ligand

Quinolone 항균제의 분자변환조작에 의한 구조개선은 Norfloxacin의 발견(Koka 등, 1980)으로부터 시작된 이후, 제3세대 Quinolones로 일컬어지는 새로운 Quinolones의 연구가 심도있게 이루어져서 Ciprofloxacin(Campoli 등, 1988), Ofloxacin(Sato 등, 1982), Enoxacin(Matsumoto 등, 1984), Pefloxacin(Gonzalez 등, 1989), Amifloxacin(Wentland 등, 1984), Difloxacin(Barry 등, 1984) 등의 우수한 항균제의 개발을 이룩하게 되었다. 이 약품들은 분자구조의 6번 위치에 fluorine 및 7번 위치에 1-piperazinyl기를 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 나타냄으로 β -lactam antibiotics에 필적하는 항미생물제로 평가되고 있다. Norfloxacin(Neu 등, 1982)은 *Pseudomonas aeruginosa*를 포함하는 Gram 음성균

과 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 구균 및 혐기성균에 대하여 항균력이 강하지 못하고 경구흡수성 및 혈중농도 등이 다소 낮은 단점이 있다. 이상에서 언급된 바 많은 Quinolone carboxylic acid계의 약품이 매우 우수한 항균작용을 보여주고 있으나, 균의 내성획득이 비교적 빠르며 교차내성(Greenwood 등, 1984)을 나타내는 등 아직도 보완되어야 할 점이 지적되고 있다.

한편 piperazinyl기의 N-H의 치환에 의하여 구조를 개량하려는 연구가 시도되어, Norfloxacin의 N-methyl체인 Pefloxacin(Gonzalez 등, 1989)의 *in vitro* 활성은 Norfloxacin 보다 약간 낮으나 경구투여시 *in vivo*에서 2-7배의 항균작용이 있음을 보고하였으며, 이것은 경구흡수성의 증가, 비교적 긴 혈청반감기 및 높은 혈중농도 등에 기인하는 것으로 시사된다. 그리고 신의약품 발전을 위한 drug design의 과정에서 bivalent ligand 구조는 매우 유용한 형태로 인식되고 있다. Bivalent ligand(Portoghese 등, 1986)란 2개의 생리활성물질(pharmacophore)이 spacer로 연결된

*To whom correspondence should be addressed.

구조의 화합물을 지칭하며, Portoghese(Erez등, 1982)등은 Oxymorphamine(opioid agonist) 및 β -Naltrexamine(opioid antagonist)을 pharmacophore로 하는 수종의 bivalent ligand 화합물이 매우 선택적이며, 강력한 활성이 있음을 보고하고, bivalent ligand 화합물에서 2개의 pharmacophore가 인접하고 있는 수용체의 작용부위에 동시에 작용할 수 있도록 spacer가 적당한 길이를 갖는다면 entropic factor 등에 의하여 대응하는 monovalent ligand보다 강력한 약물활성을 나타내며, spacer의 종류 및 길이와 약물활성과의 사이에는 밀접한 상관성이 있다는 주장을 했다.

이상에서 기술된 바와 같이 많은 bivalent ligand 구조화합물이 유익한 생리활성을 보여주고 있음에 주목하고, 저자는 보다 우수한 항미생물제를 탐색하고, 구조와 생리활성과의 관계에 대한 새로운 정보를 얻을 것을 목적으로 본 연구에 착수하였다. Quinolone계 항미생물제중 piperazinyl 기를 가지며 근래 우수한 합성화학요법제로 평가되고 있는 Norfloxacin 분자구조를 대상으로 분자 변환조작을 시도하여, piperazinyl 기의 N-H에서 spacer가 결합된 bivalent ligand 구조화합물과 이에 대응하는 monovalent ligand 구조화합물을 합성하였다. 그리고, 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 talampicillin 등이 있다. 이에 저자는 항균력이나 생체내 이용률을 개선시켜 보다 우수한 quinolone carboxylic acid 유도체의 pro-drug를 탐색할 목적으로 상기 합성화합물의 pivaloyloxymethyl esters를 합성하였다.

실험방법

본 실험에서 합성화합물의 분석시험에는 다음 기기를 사용하였으며, NMR에서는 tetramethylsilane(TMS)를 내부표준물질로 사용하였다. TLC에서는 silicagel plate(Merck 60 F254, thickness 0.2 mm)를 사용하였고, UV light 또는 iodine vapour에 의하여 spot를 확인하였다.

- 1) mp 측정 : Gallen kamp MFB-595-0306
- 2) IR Spectra : Nicolet 5-MX
- 3) NMR Spectra : Varian XL-200
- 4) 원소분석 : Perkin Elmer Model 240XA

1. 합성

1-1. 원료물질의 합성 (1)

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

Norfloxacin 9.60g (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, H₂O 10 ml를 가하여 생성된 침전을 흡인여과 하고, 물과 acetone의 혼합용액으로 2-3회 세척한다. 침전물을 에탄올과 DMF에서 재결정하여 백색의 결정성 분말을 얻었다.

Yield: 10.96g (92%); mp: 280-281°C;

$R_f=0.66(\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{Toluene}:\text{Diethylamine}:\text{H}_2\text{O}=5:5:2:5:1.9:1)$; IR(KBr) 2950, 1710, 1650, 1475, 1250 cm^{-1} ; ¹H-NMR(DMSO-d₆), δ : 1.42(t, 3H), 3.70, 3.80(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 C₁₈H₁₉C₁FN₃O₄

C54.61, H4.80, N10.62

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

1-2. 목적물질의 합성 (2-19)

1-2-1 Bivalent ligand quinolones (2-11)의 합성

1-2-1-1 Bivalent ligand quinolone carboxylic acids (2-6)의 합성

N,N'-Trimethylene-bis[1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-glycyl-1-piperazinyl)quinoline-3-carboxylic acid] (3)의 합성

화합물(1) 3.96 g(10 mmole)을 acetonitrile(80 ml)과 triethylamine(1.5 ml)에 녹이고, 1,3-diaminopropane 0.30 g(5 mmole)을 acetonitrile(5 ml)에 용해시킨 용액을 가하여 60-65°C에서 5-6시간 동안 반응시킨다. H₂O(80 ml)를 가하여 생성된 침전을 흡인여과하고, MeOH용액으로 2-3회 세척한 후, 침전물을 DMF와 MeOH 혼합용매로 재결정하여 미황색의 결정성 분말을 얻었다.

Yield: 3.17g(40%); mp: 207-209°C ;

$R_f=0.18(\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{Toluene}:\text{Diethylamine}:\text{H}_2\text{O}=5:5:2.5:1.9:1)$; IR(KBr) 3390, 2900, 1720, 1645, 1475, 1260 cm^{-1} ; ¹H-NMR(DMSO-d₆), δ : 1.42(t, 6H), 3.23-3.72(m, 26H), 4.60(two q, 4H), 7.10(two d, 2H), 7.70(two d, 2H), 8.96 (two s, 2H)

Anal. Calcd. for C₃₉H₄₆F₂N₈O₈

C59.02, H5.80, N14.12

Found C59.57, H5.94, N14.23

이와 유사한 방법으로 ethylenediamine, 1,4-diaminobutane, 1,6-diaminohexane 및 1,8-diaminooctane을 사용하여 화합물 (2), (4), (5), (6)을 합성하였다.

N,N'-Dimethylene-bis[1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-glycyl-1-piperazinyl)quinoline-3-carboxylic acid] (2)

Yield: 38%; mp: 210-212°C ;

$R_f=0.12(\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{Toluene}:\text{Diethylamine}:\text{H}_2\text{O}=5:5:2.5:1.9:1)$; IR(KBr) 3410, 2940, 1710, 1640, 1480

cm⁻¹; ¹H-NMR(DMSO-d₆), δ :1.42(t, 6H), 3.35-3.77(m, 24H), 4.58(two q, 4H), 7.18(two d, 2H), 7.88(two d, 2H), 8.92(two s, 2H)

N,N'-Tetramethylene-bis[1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-glycyl-1-piperazinyl)quinoline-3-carboxylic acid] (**4**)

Yield : 29% ; mp : 192-193°C ;

R_f=0.19(CHCl₃:MeOH:Toluene:Diethylamine:H₂O=5:5:2.5:1.9:1); IR(KBr) 3420, 2970, 1725, 1630, 1475 cm⁻¹; ¹H-NMR (DMSO-d₆), δ :1.40(t, 6H), 3.41-3.78(m, 28H), 4.50 (two q, 4H), 7.15(two d, 2H), 7.80(two d, 2H), 8.90(two s, 2H)

N,N'-Hexamethylene-bis[1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-glycyl-1-piperazinyl)quinoline-3-carboxylic acid] (**5**)

Yield : 22% ; mp : 236-238°C ;

R_f=0.13(CHCl₃:MeOH:Toluene:Diethylamine:H₂O=5:5:2.5:1.9:1); IR(KBr) 3420, 2960, 1730, 1620, 1480 cm⁻¹; ¹H-NMR(DMSO-d₆), δ :1.45(t, 6H), 3.28-3.79(m, 32H), 4.60 (two q, 4H), 7.20(two d, 2H), 7.90(two d, 2H), 8.95 (two s, 2H)

N,N'-Octamethylene-bis[1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-glycyl-1-piperazinyl)quinoline-3-carboxylic acid] (**6**)

Yield : 43% ; mp : 216-217°C ;

R_f=0.17(CHCl₃:MeOH:Toluene:Diethylamine:H₂O=5:5:2.5:1.9:1); IR(KBr) 3440, 2950, 1720, 1650, 1490 cm⁻¹; ¹H-NMR(DMSO-d₆), δ :1.45(t, 6H), 3.33-3.82(m, 36H), 4.60(two q, 4H), 7.20(two d, 2H), 7.90(two d, 2H), 8.95(two s, 2H)

1-2-1-2 Bivalent ligand pivaloyloxymethyl quinolone carboxylates (**7-11**)의 합성

Pivaloyloxymethyl N,N'-trimethylene-bis[1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-glycyl-1-piperazinyl)quinoline-3-carboxylate] (**8**)의 합성

화합물(**3**) 1.56 g(2 mmole)을 DMF (50 ml)에 가운 용해하고, K₂CO₃(2.76 g) 및 KI(0.66 g)을 가하여 50-55 °C에서 2시간 동안 반응시킨다. Pivaloyloxymethyl chloride 0.9 g(6 mmole)을 acetone 5 ml에 용해시킨 용액을 반응액에 가하여 80-90 °C에서 3-4시간 교반한다. 반응액을 감압 농축한 후, 20% NH₄Cl용액(300 ml)에 현탁하여 흡입 여과하고, DMF와 MeOH의 혼합용매로 재결정하여 미황색의 결정성 분말을 얻었다.

Yield : 0.86 g(42%) ; mp : 186-188 °C ;

R_f=0.54(CHCl₃:MeOH:Toluene:Diethylamine:H₂O=5:5:2.5:1.9:1); IR(KBr) 3420, 2970, 1730, 1630, 1480 cm⁻¹; ¹H-NMR(DMSO-d₆), δ : 1.20(s, 18H), 1.40(t, 6H), 3.21-3.79(m, 24H), 4.50(two q, 4H), 5.85(s, 4H), 7.10 (two

d, 2H), 7.80(two d, 2H), 8.80(two s, 2H)

Anal, Calcd for C₅₁H₆₆F₂N₈O₁₂

C59.94, H6.46, N10.97

Found C59.84, H6.32, N11.07

이와 동일한 방법으로 화합물 (**2**), (**4**), (**5**), (**6**)을 원료로 하여 화합물(**7**), (**9**), (**10**), (**11**)을 합성하였다.

Pivaloyloxymethyl N,N'-dimethylene-bis[1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-glycyl-1-piperazinyl)quinoline-3-carboxylate] (**7**)

Yield : 45% ; mp : 201-202°C ;

R_f=0.68(CHCl₃:MeOH:Toluene:Diethylamine:H₂O=5:5:2.5:1.9:1); IR(KBr) 3400, 2950, 1720, 1620, 1475 cm⁻¹; ¹H-NMR(DMSO-d₆), δ : 1.20(s, 18H), 1.40(t, 6H), 3.21-3.79(m, 26H), 4.50(two q, 4H), 5.85(s, 4H), 7.15(two d, 2H), 7.80(two d, 2H), 8.80(two s, 2H)

Pivaloyloxymethyl N,N'-tetramethylene-bis[1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-glycyl-1-piperazinyl)quinoline-3-carboxylate] (**9**)

Yield : 47% ; mp : 181-183°C ;

R_f=0.60(CHCl₃:MeOH:Toluene:Diethylamine:H₂O=5:5:2.5:1.9:1); IR(KBr) 3380, 2980, 1720, 1650, 1480 cm⁻¹; ¹H-NMR (DMSO-d₆), δ :1.21(s, 18H), 1.45(t, 6H), 3.24-3.81(m, 28H), 4.60(two q, 4H), 5.85(s, 4H), 7.20 (two d, 2H), 7.90(two d, 2H), 8.95(two s, 2H)

Pivaloyloxymethyl N,N'-hexamethylene-bis[1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-glycyl-1-piperazinyl)quinoline-3-carboxylate] (**10**)

Yield : 61% ; mp : 203-205 °C ;

R_f=0.73 (CHCl₃:MeOH:Toluene:Diethylamine:H₂O=5:5:2.5:1.9:1); IR(KBr) 3400, 2950, 1730, 1650, 1475 cm⁻¹; ¹H-NMR(DMSO-d₆), δ :1.15(s, 18H), 1.45(t, 6H), 3.23-3.83(m, 32H), 4.60(two q, 4H), 5.85(s, 4H), 7.20 (two d, 2H), 7.90(two d, 2H), 8.95(two s, 2H)

Pivaloyloxymethyl N,N'-octamethylene-bis[1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-glycyl-1-piperazinyl)quinoline-3-carboxylate] (**11**)

Yield : 55% ; mp : 202-204°C ;

R_f=0.76(CHCl₃:MeOH:Toluene:Diethylamine:H₂O=5:5:2.5:1.9:1); IR(KBr) 3400, 2950, 1730, 1620, 1480 cm⁻¹; ¹H-NMR(DMSO-d₆), δ :1.20(s, 18H), 1.40(t, 6H), 3.31-3.85(m, 36H), 4.50(two q, 4H), 5.85(s, 4H), 7.20 (two d, 2H), 7.85(two d, 2H), 8.80(two s, 2H)

1-2-2 Monovalent ligand quinolones (**12-19**)의 합성

1-2-2-1 Monovalent ligand quinolone carboxylic acids (**12-15**)의 합성

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

Table 1. Antimicrobial activities of synthesized compounds

No. of compounds	Strains	<i>E. Coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>
		7-PE-4	HCA-79110	74-51	JYA-78314	78615	8765-1P ₂
2		31.25	15.6	15.6	15.6	31.25	31.25
3		62.5	62.5	62.5	31.25	62.5	62.5
4		125	15.6	31.25	31.25	31.25	62.5
5		31.25	15.6	15.6	31.25	31.25	62.5
6		62.5	62.5	31.25	62.5	31.25	15.6
7		1.95	3.9	15.6	31.25	15.6	250
8		31.25	31.25	125	62.5	125	250
9		31.25	15.6	15.6	31.25	31.25	62.5
10		62.5	15.6	31.25	62.5	62.5	62.5
11		15.6	125	15.6	125	62.5	31.25
12		31.25	15.6	31.25	3.9	31.25	31.25
13		15.6	7.8	1.95	15.6	1.95	31.25
14		31.25	15.6	7.8	15.6	15.6	15.6
15		31.25	3.9	3.9	31.25	7.8	31.25
16		31.25	31.25	15.6	15.6	15.6	125
17		31.25	0.98	3.9	31.25	15.6	125
18		31.25	62.5	15.6	31.25	62.5	62.5
19		62.5	62.5	125	62.5	31.25	250
NOR		3.9	0.018	0.49	0.25	3.9	0.49

NOR=Norfloxacin

1-piperazinyl) quinoline-3-carboxylic acid (**12**)의 합성

화합물(1) 3.96 g(10 mmole)을 DMF(100 ml)에 가온 용해한 후, 실온에서 methylamine 1.55 g을 가하고 2-3시간 반응시킨다. 반응 혼합액을 감압 농축하여 생성된 침전을 흡인 여과한 후, DMF와 MeOH의 혼합용매로 재결정하여 미황색의 결정성 분말을 얻었다.

Yield: 0.98 g(25%); mp: 272-274°C ;

$R_f=0.51$ (CHCl₃:MeOH:Toluene:Diethylamine:H₂O=5:5:2.5:1.9:1); IR(KBr) 3470, 2950, 1740, 1640, 1490, 1260 cm⁻¹; ¹H-NMR(DMSO-d₆), δ : 1.45(t, 3H), 3.35-3.72(m, 11H), 4.15(s, 2H), 4.65(q, 2H), 7.25(d, 1H), 7.90(d, 1H), 8.95(s, 1H)

Anal, Calcd for C₁₉H₂₃FN₄O₄

C58.46, H5.90, N14.36

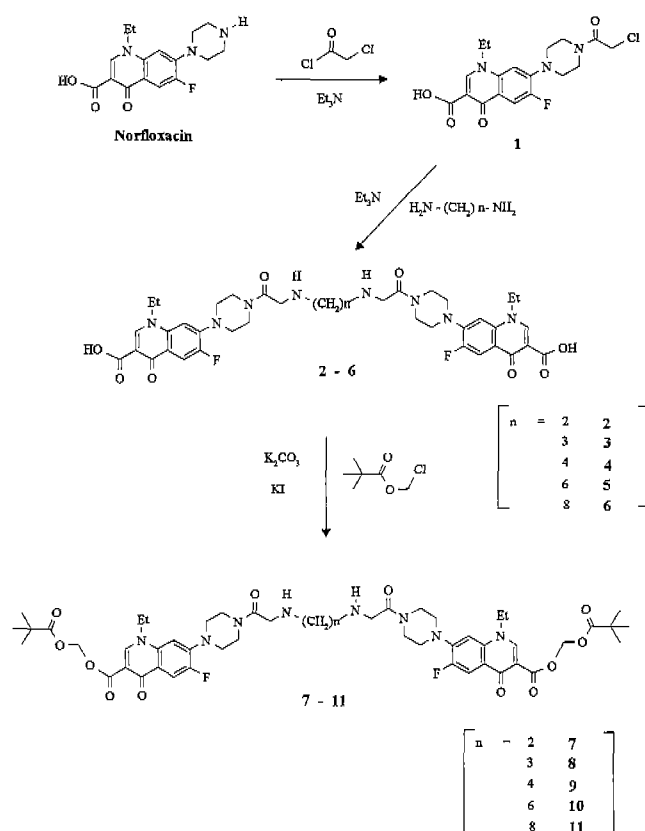
Found C58.42, H5.94, N14.47

이와 동일한 방법으로 dimethylamine, ethylamine 및 diethylamine을 사용하여 화합물 (**13-15**)을 합성하였다.

1-Ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-N,N'-dimethylglycyl-1-piperazinyl) quinoline-3-carboxylic acid (**13**)

Yield: 27%; mp: > 300°C ;

$R_f=0.68$ (CHCl₃:MeOH:Toluene:Diethylamine:H₂O=5:5:2.5:1.9:1); IR(KBr) 3440, 2950, 1710, 1635, 1480 cm⁻¹; ¹H-NMR(DMSO-d₆), δ : 1.45(t, 3H), 3.30-3.76(m, 14H), 4.15(s, 2H), 4.60(q, 2H), 7.25(d, 1H), 8.00(d, 1H), 9.00(s, 1H)

**Scheme 1.** Synthesis of bivalent ligand quinolone carboxylates

razinyl) quinoline-3-carboxylic acid (**14**)

Yield : 37% ; mp : 293-295°C ;

$R_f=0.65(\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{Toluene}:\text{Diethylamine}:\text{H}_2\text{O}=5:5:2:5:1.9:1)$; IR(KBr) 3430, 2980, 1710, 1640, 1480 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-d}_6)$, δ : 1.40-1.52(m, 6H), 3.35-3.75(m, 10H), 4.15(s, 2H), 4.60(q, 2H), 7.20(d, 1H), 7.90(d, 1H), 8.95 (s, 1H)

1-Ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-N,N'-diethylglycyl-1-piperazinyl) quinoline-3-carboxylic acid (**15**)

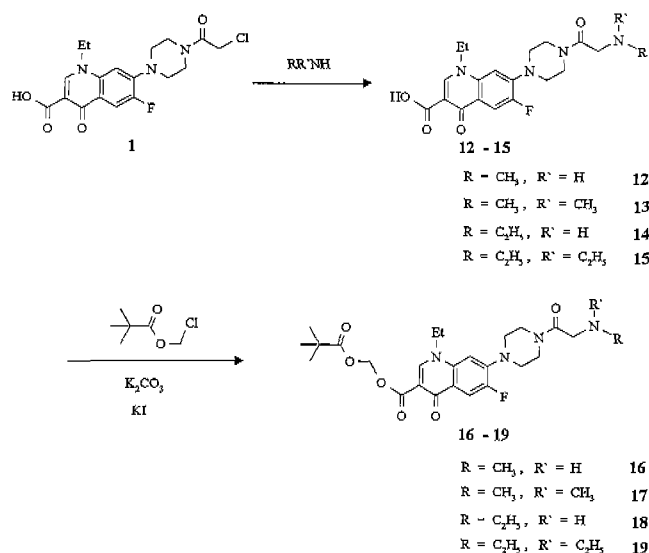
Yield : 78% ; mp : 205-207°C ;

$R_f=0.71(\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{Toluene}:\text{Diethylamine}:\text{H}_2\text{O}=5:5:2:5:1.9:1)$; IR(KBr) 3400, 2960, 1720, 1630, 1475 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-d}_6)$, δ : 1.32-1.47(m, 9H), 3.32-3.79(m, 12H), 4.20(s, 2H), 4.60(q, 2H), 7.20(d, 1H), 7.90(d, 1H), 8.90 (s, 1H)

1-2-2-2. Monovalent ligand pivaloyloxymethyl quinolone carboxylate (**16-19**)의 합성

Pivaloyloxymethyl 1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-N-methylglycyl-1-piperazinyl) quinoline-3-carboxylate (**16**)의 합성

화합물(**12**) 2.34 g(6 mmole)을 DMF(50 ml)에 가온 용해하고, K_2CO_3 (3.3 g) 및 KI(1.0 g)을 가하여 50-60°C에서 2시간 동안 반응시킨다. Pivaloyloxymethyl chloride 1.35 g(9 mmole)을 acetone 5 ml에 용해시킨 용액을 반응 혼합액에 가하여 80-85°C에서 3-4시간 교반한다. 반응액을 감압 농축한 후, 20% NH_4Cl 용액 (300 ml)에 현탁하여 흡입 여과하고, DMF와 MeOH의 혼합용매로 재결정하여 미황색의 결정성 분말을 얻었다.



Scheme 2. Synthesis of monovalent ligand quinolone carboxylates

Yield : 1.20 g(40%) ; mp : 175-176°C;

$R_f=0.78(\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{Toluene}:\text{Diethylamine}:\text{H}_2\text{O}=5:5:2:5:1.9:1)$; IR(KBr) 3400, 2980, 1720, 1620, 1475 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-d}_6)$, δ : 1.21(s, 9H), 1.40(t, 3H), 3.25-3.70(m, 11H), 4.50(q, 2H), 5.95(s, 2H), 7.15(d, 1H), 7.80(d, 1H), 8.80 (s, 1H)

Anal, Calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{FN}_4\text{O}_6$
 C59.52, H6.55, N11.11

Found C59.63, H6.23, N11.47

이하 동일한 방법으로 화합물 (**13**), (**14**), (**15**)을 원료로 하여 화합물(**17**), (**18**), (**19**)을 합성하였다.

Pivaloyloxymethyl 1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-N,N'-dimethylglycyl-1-piperazinyl)quinoline-3-carboxylate (**17**)

Yield : 52% ; mp : 280-283°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) 3380, 2980, 1730, 1640, 1480 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-d}_6)$, δ : 1.15(s, 9H), 1.40(t, 3H), 3.30-3.76 (m, 16H), 4.45(q, 2H), 5.98(s, 2H), 7.10(d, 1H), 7.80(d, 1H), 8.70 (s, 1H)

Pivaloyloxymethyl 1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-N-ethylglycyl-1-piperazinyl) quinoline-3-carboxylate (**18**)

Yield : 45% ; mp : 198-201°C;

$R_f=0.89(\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{Toluene}:\text{Diethylamine}:\text{H}_2\text{O}=5:5:2:5:1.9:1)$; IR(KBr) 3420, 2990, 1720, 1650, 1490 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-d}_6)$, δ : 1.15(s, 9H), 1.38-1.51(m, 6H), 3.31-3.74 (m, 10H), 4.45(q, 2H), 6.01(s, 2H), 7.10(d, 1H), 7.80(d, 1H), 8.75(s, 1H)

Pivaloyloxymethyl 1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(4-N,N'-diethylglycyl-1-piperazinyl) quinoline-3-carboxylate (**19**)

Yield : 66% ; mp : 193-195°C ;

$R_f=0.86(\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{Toluene}:\text{Diethylamine}:\text{H}_2\text{O}=5:5:2:5:1.9:1)$; IR(KBr) 3410, 2995, 1710, 1640, 1480 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-d}_6)$, δ : 1.20(s, 9H), 1.30-1.49(m, 9H), 3.27-3.76(m, 14H), 4.45(q, 2H), 5.98(s, 2H), 7.15(d, 1H), 7.85(d, 1H), 8.70(s, 1H)

2. 항균시험

2-1 사용균주 및 배지

2-1-1 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

2-1-2. 배지

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

2-2 시험방법

합성한 각 화합물은 현탁화제로 Tween 80이 0.2% 함유된 polyethyleneglycol 400(이하 PEG)에 현탁시켰으며, 각 합성화합물의 용매내의 최종 함유농도를 1 ml 당 500 µg으로 하여 이를 원액으로 하였다. 멸균 시험관내에 nutrient broth를 각각 2 ml씩 취한 후, 상기 조제원액을 2 ml씩 가하여 최고 농도의 것으로 하고 이를 nutrient broth로 배수희석 하였다.

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 norfloxacin과 비교 관찰하였고, 그 결과는 Table I에 표시하였다.

결과 및 고찰

Norfloxacin을 chloroacetyl chloride으로 처리하여 92%의 수율로 chloroacetyl norfloxacin (1)을 합성한 후, alkyldiamines과 반응시켜서 bivalent ligand quinolone carboxylic acids (2-6)를 22-43%의 수득률로 합성하였다. 이 화합물들을 DMF에 용해하고 KI 촉매 존재하에 pivaloyloxymethyl chloride와 반응시켜 bivalent ligand pivaloyloxymethyl quinolone carboxylates(7-11)를 42-61%의 수득률로 합성하였다(Scheme 1). Chloroacetyl norfloxacin (1)을 DMF용액 중에서 alkylamines와 반응시켜서 monovalent ligand quinolone carboxylic acids (12-15)를 25-78%의 수득률로 합성하였고, 이 화합물들을 KI와 K₂CO₃ 존재하에 pivaloyloxymethyl chloride와 반응하여 monovalent ligand pivaloyloxymethyl quinolone carboxylates (16-19)를 40-66%의 수득률로 합성할 수 있었다(Scheme 2).

본 실험에서 합성한 18종의 화합물에 대하여 norfloxacin를 대조약물로 하여 *in vitro*에서 실시한 항균시험 결과를 고찰하면 다음과 같다. 분자내 free carboxyl 기를 갖는 quinolone carboxylic acid analogues (2-6, 12-15)는 대응하는 구조의 pivaloyloxymethyl ester analogues (7-11, 16-19)보다 대등하거나 다소 상승된 항균력을 보여주었다. Spacer의 변화에 따른 항균력의 변화는 bivalent ligand quinolone carboxylic acids의 경우 현저하지 않으며, monovalent ligand quinolone carboxylic acids는 alkyl chain이 길어질수록 다소 항균력의 증가를 나타내었

다. 합성 화합물의 bivalent ligand quinolones와 monovalent ligand quinolones 사이에 약물활성의 차이는 현저하지 않으나 monovalent ligand quinolones가 일반적으로 높은 항균력을 보여주었다.

참고문헌

- Barry, A. L., Jones, R. N., Thornsberry, C., Ayers, L. W., Gerlach, E. H. and Sommers, H. M. (1984). Antibacterial activities of ciprofloxacin, norfloxacin, oxolinic acid, cinoxacin, and nalidixic acid. *Antimicrob. Agents Chemother.* **25**, 633.
- Campoli, D. M., Monk, J. P., Price, A., Benfield, P., Todd, P. A. and Ward, A. (1988). Ciprofloxacin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs* **35**, 373.
- Erez, M., Takemori, A. E. and Portoghese, P. S. (1982). Narcotic antagonistic potency of bivalent ligands which contain beta-naltrexamine. Evidence for bridging between proximal recognition sites. *J. Med. Chem.* **25**, 847.
- Gonzalez, J. P. and Henwood, Y. M. (1989). Pefloxacin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs* **37**, 628.
- Greenwood, D., Osman, M., Goodwin, J., Cowlshaw, W. A. and Slack, R. (1984). Norfloxacin: activity against urinary tract pathogens and factors influencing the emergence of resistance. *J. Antimicrob. Chemother.* **13**, 315.
- Koga, H., Itoh, A., Murayama, S., Suzue, S. and Irikura, T. (1980). 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.
- Matsumoto, J., Miyamoto, T., Minamida, A. and Nishimura, Y. (1984). 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.
- Neu, H. C. and Labthavikul, P. (1982). *In vitro* activity of norfloxacin, a quinoline carboxylic acid, compared with that of β -lactams, aminoglycosides, and trimethoprim. *Anti-microb. Agents Chemother.* **22**, 23.
- Portoghese, P. S., Larson, D. L., Yim, C. B., Sayre, L. M., Ronsisvall, G., Tam, S. W. and Takemori, A. Z. (1986). Opioid agonist and antagonist bivalent ligands. The relationship between spacer length and selectivity at multiple opioid receptors. *J. Med. Chem.* **29**, 1885.
- Sato, K., Matsuura, Y., Inoue, M., Une, T., Osada, Y., Ogawa, H., Mitsuhashi, S. (1982). *In vitro* and *in vivo* activity of DL-8280, a new oxazine derivative. *Antimicrob. Agents Chemother.* **22**, 548.
- Wentland, M. P., Bailey, D. M., Cornett, J. B., Dobson, R. A., Powles, R. G. and Wagner, R. B. (1984). Novel amino-substituted 3-quinolinecarboxylic acid antibacterial agents: synthesis and structure-activity relationships. *J. Med. Chem.* **27**, 1103.