약학회지 제37권 제3호 295~305(1993)
Yakhak Hoeji Vol. 37, No. 3

새로운 경구용 세파로스포린의 합성 및 항균작용

나성범# · 정명희* · 김완주* · 지웅길
충남대학교 약학대학, *한국화학연구소

(Received June 11, 1993)

Synthesis and Antibacterial Activities of New Oral Cephalosporins

Sung-Bum La#, Myung-Hee Jung*, Wan-Joo Kim* and Ung-Kil Jee
College of Pharmacy, Chungnam National University, Taejon 305-764, Korea
**Korea Research Institute of Chemical Technology, Taejon 305-606, Korea*

Abstract—In order to develop oral cephalosporin having a new substituent at 3 position, the synthesis of cephalosporins modified at C-3 and the effect of the substituents on the oral absorption is studied. 7-[(Z)-2-(2-Aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyridyl)piperazinyl] thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid (CEN1) and 7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyrimidyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid (CEN2) were synthesized from 4-(2-piridyl)piperazinyl dithiocarbamate potassium salt or 4-(2-pirimidyl)piperazinyl dithiocarbamate potassium salt and cefotaxime. Also pivaloyloxymethyl esters of CEN1 and CEN2, pivaloyloxymethyl 7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyridyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylate (CEN1P) and pivaloyloxymethyl 7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyrimidyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylate (CEN2P) were synthesized.

The *in vitro* activities of two new oral cephalosporins, CEN1 and CEN2, were compared with the *in vitro* activities of cefaclor and cefotaxime against a variety of bacterial species. CEN2 has a broad antibacterial spectrum covering Gram-positive and Gram-negative bacteria, similar to that exhibited by CEN1 and cefotaxime. CEN1 and CEN2 were more active *in vitro* than cefaclor against *Streptococcus pyogenes, Klebsiella aerogenes* and *Enterobacter cloacae.*

Keywords □ Oral cephalosporins, 7-[(Z)-2-(2-Aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyridyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid (CEN1), 7-[(Z)-2-(2-Aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyrimidyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid (CEN2), Pivaloyloxymethyl esters, Antibacterial activities (MIC)

세팔로스포린계 항생물질은 비교적 구조-활성 상관관계가 잘 알려진 의약품 중의 하나로 7-베타아실아미노기 (7-β-acylamino기), C-3위치 및 C-7α위치의 변화 등을 통해 페니실린보다 훨씬 넓은 범위에서 변화를 시도할 수 있다.[1,2] C-2위치는 일반적으로 수소 이외의 것으로 치환시키면 약효가 저하되는데 합성 중간체인 할라이드를 얻기가 어렵고 α, β-이성체의 존재때문에 소수의 치환기 밖에는 없다.[3] C-3 위치는 주로 항균력, 흡수, 대사를 결정짓는 중요부위로 경구용에서는 메칠, 클로로, 메톡시, 비닐, 메칠비닐 등 작은 치환기로 한정되어 있으나 주사제는 아세톡시메칠, 각종 헤테로싸이클릭 치오메칠, 각종 환형 4급 아민의 메칠렌 염등 부피가 큰 치환체가 주류를 이룬다. C-4 위치는 주로 흡수에 관여하는 부위로 긴 사슬의 에스터를 형성하는 프로드럭에 대한 연구가 진행되고 있다. C-7α위치는 메톡시기가 존재하게 되면 β-lactamase에 대한 저항성을 증가시키는 것으로 알려졌고 C-7위치는 흡수, 대사외에도 항균작용의 정도와 폭을 결정하게 되는데 7-아릴글리실 세펨의 경구

#본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

흡수와 같은 예외를 제외하면 체내약물동태에는 관여치 않게 된다. 그러므로 C-7위치에 알킬옥심기가 있는 아미노치아졸의 연구가 주류를 이루고 있다. 여기서 특히 중요한 C-3위치의 치환기 변화에 따른 항균력과의 관계를 살펴보면 C-3위치에 아세톡시메칠기를 가진 세팔로스포린들은 대사과정에서 가수분해를 통해 C-3 하이드록시메칠기로 변하게 되어 항균력이 떨어진 물질로 된다.[2,4-13] 또한 이들은 세포탁심을 제외하면 가수분해된 세팔로스포린들의 혈중반감기도 짧게 나타난다. 따라서 이와같은 단점을 보완하기 위하여 많은 세펨화합물들의 C-3아세톡시메칠기에 대한 변화를 시도했으며 그 예로 세프티족심의 수소, 세프록사딘의 알콕시, 세파클러의 클로로 및 세픽심의 비닐기등이 있다.[14-19]

세팔로스포린은 페니실린보다 산 안정성이 좋으나 경구용활성이 매우 낮은 특성을 가지고 있는데 광범위한 항균력을 가지면서 흡수도가 좋은 초기의 경구용 세팔로스포린 유도체들은 페닐글리실이나 *p*-하이드록시페닐글리실의 구조를 가지고 있다. 세팔로스포린의 경구흡수도는 C-3위치의 변화에 커다란 영향을 받는데 이들은 비교적 작은 치환기들로 대부분 친유성인 성질을 가지고 있는데 C-3위치의 메칠기를 보다 극성이 강한 클로로나 메톡시기로 치환시키면 경구흡수성이 유지되면서 항균력은 증가되어 나타난다.[16,17,20,21] 경구용 세팔로스포린의 구조적 특징은 대체로 C-3 위치에 leaving group이 없다는 점이다. 따라서 새로운 경구용 세팔로스포린 유도체들의 개발동향은 C-7위치에 항균력 및 박테리아에 대한 침투력이 강화된 아미노치아졸기와 β-lactamase에 대한 저항성이 증가된 메톡시이미노기가 서로 조합된 화합물로 치환되고 있다. 또한 C-3위치는 다양하게 변화되어 부피가 큰 그룹으로 치환되고 C-4위치의 산기를 에스터화시키면 염의 형태보다 훨씬 안정화되어 산에 의해 잘 분해되지 않으며 경구흡수도를 증가시킬 수 있는 사실을 기반으로 C-4위치를 에스터로 프로드럭화한 경구용 세팔로스포린 항생제가 개발중임으로써 폭 넓은 항균스펙트럼과 항균력 및 β-lactamase에 대한 저항성을 향상시키고 있다. 경구용 세팔로스포린 항생제의 구조활성 및 약리작용에 관한 문제에서 C-3위치에 방향족기를 도입하면 친유성은 증가되나 그람음성균에 대한 효력이 떨어지며 C-3위치에 알콕시기를 도입할 때 알콕시기가 커지면 그람양성균에 대한 항균력은 증가하나 그람음성균에 대한 항균력은 감소하므로 이런 요인들을 균형있게 도입하는 것이 중요하다.

이에 저자 등은 경구용 세팔로스포린의 개발에 목적을 두고 설계하였다. C-7위치에는 2-아미노치아졸기와 메톡시이미노기를 조합시키므로서 상승효과에 의한 항균력과 항균스펙트럼 및 β-lactamase에 대한 저항성을 향상시킬 목적으로 2-아미노치아졸메톡시이미노기를 도입하였고 C-3위치에는 항균성과 안정성을 증가시킬 목적으로 피페라진기에 피리딘과 피리미딘을 각각 조합하여 복소환으로 하였으며 이를 세팔로스포린 모핵에 도입 할 때에는 치환반응이 쉽게 진행되도록 하기 위해 S-친핵성으로 하였다. C-4위치에는 경구용 제제로서 흡수율을 개선하여 생체이용율을 높일 목적으로 피발로일옥시메칠기를 도입하여 4종의 화합물을 합성하였다. 이와 같이 합성한 새로운 세팔로스포린에 대한 항균력과 항균스펙트럼의 평가는 일반적으로 활용하고 있는 그람양성균 및 그람음성균에 대한 최소발육저지농도 (MIC)를 측정하였으며 이때 경구용 항생제인 세파클러와 주사제인 세포탁심에 대해 함께 실험하여 기존의 항생제의 항균력과 비교실험한 결과를 보고하고자 한다.

실험방법

시약 및 기기－세포탁심은 Hoechst AG(Postfach, Frankfurt/M.)제품, 2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetic acid는 Lonza사 제품 및 2-(tritylamino)-α-(methoxyimino)-4-thiazoleacetic acid HCL은 Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, WI) 제품을 사용하였고 fleisch extract broth와 Mueller-Hinton agar는 Difco Lab. (Detroit, MI) 제품을 사용하였으며 말 혈청은 Gibco Lab. Life Technol., Inc. (Madison. WI) 및 양의 혈액은 Korea media사(서울)제품을 사용하였다. 기타 시약은 Aldrich사와 Janssen사의 EP급 이상을 사용하였으며 반응시 무수조건으로 사용된 용매류는 일반적인 방법으로 정제하여 사용하였다.

기기로 ^{1}H-NMR 스펙트럼을 TMS를 내부표준물질로하여 300 MHz Bruker AM 300－300 NMR 분광계와 200 MHz Verian Gemini-200 NMR 분광계를 사용하여 측정하였고 IR 스펙트럼은 Shimadzu Infra-

red 분광광도계 (IR-435)를 사용하였으며 융점측정은 Thomas Hoover 모세관 융점측정기를 사용하였고 항균작용을 측정하기 위해 사용된 기기는 Autometic inoculator (MIC-2000, Dynatech, USA)를 사용하였다.

4-(2-Pyridyl)piperazinyl dithiocarbamate potassium salt (R1)의 합성－KOH 0.37g (6.59 mmole)을 물 최소량에 용해시키고 0℃에서 1-(2-피리딜)피페라진 1.02 ml (6.07 mmole)을 가하고 30분간 교반한 다음 CS_2 0.40 ml (6.65 mmole)를 디에칠에텔 40 ml에 용해시켜 반응혼합물에 적가하고 1시간 동안 교반하였다. 반응종결 후 감압농축하고 디에칠에텔과 아세톤으로 결정화하여 연노란색의 목적화합물 1.69 g (수율 : 90.9%)을 얻었다. TLC (n-부탄올 : 초산 : 물 =4 : 1 : 1); Rf=0.28, ^{1}H-NMR (Acetone-d_6, δppm) : 3.55(t, piperazine-4H), 4.55(t, piperazine-4H), 6.60 (t, pyridine-1H), 6.75(d, pyridine-1H), 7.75(t, pyridine-1H), 8.15(d, pyridine-1H).

4-(2-Pyrimidyl)piperazinyl dithiocarbamate potassium salt (R2)의 합성－TLC(n-부탄올 : 초산 : 물= 4 : 1 : 1); Rf=0.30, ^{1}H-NMR(D_2O, δppm)) : 3.67(m, piperazine-4H), 4.29(m, piperazine-4H), 6.60(t, pyrimidine-1H), 8.20(d, pyrimidine-2H).

Diphenylmethyl 7-phenylacetamido-3-[4-(2-pyridyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylate (C7)의 합성－실온에서 C6 5.00g (9.38 mmole)을 아세톤 100 ml에 용해시키고 NaI 3.52g (23.48 mmole)을 가하고 30분동안 교반한 다음 R1 3.90g (14.06 mmole)을 최소량의 물에 용해시키어 적가하고 1시간동안 교반하였다. 반응종결 후 감압농축하고 에칠아세테이트를 가하여 목적물을 추출한 다음 포화소금물 및 물로 세척하고 건조시켜 감압농축한 것을 에칠아세테이트 최소량에 용해시켜 관 크로마토그라피 (톨루엔 : 에칠아세테이트=10 : 1)법으로 분리하여 목적화합물 6.72g (수율 : 97.3%)을 얻었다. TLC (톨루엔 : 에칠아세테이트=2 : 1); Rf=0.53, 융점 : 146～147℃, ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, δppm) : 3.60 (ABq, C_2-2H), 3.63(d, $PhCH_2CO$-2H), 3.70(m, piperazine-4H), 4.05(bs, piperazine-2H), 4.45(bs, piperazine-2H), 4.60(ABq, C_3'-2H), 4.95((d, C_6-1H), 5.85(d, C_7-1H), 6.10(d, NH-1H), 6.65(d, pyridine-1H), 6.70(q, pyridine-1H), 6.94(s, Ph_2CH-1H), 7.30(m, PH_3-15H), 7.55(m, pyridine-1H), 8.21(dd, pyridine-1H).

Diphenylmethyl 7-phenylacetamido-3-[4-(2-pyrimidyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylate (C8)의 합성－TLC(톨루엔 : 에칠아세테이트=4 : 1); Rf=0.46, 융점 : 109～110℃, ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, δppm) : 3.55(q, piperazine-2H), 3.60 (ABq, C_2-2H), 3.63(d, $PhCH_2CO$-2H), 3.95(bs, piperazine-4H), 4.40(bs, piperazine-2H), 4.58(ABq, C_3'-2H), 6.60(t, pyrimidine-2H), 6.95(s, Ph_2CH-1H), 7.30(m, PH_3-15H), 8.36(m, pyrimidine-2H).

Diphenylmethyl 7-amino-3-[4-(2-pyridyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylate (C9)의 합성－실온에서 질소가스를 통하면서 C7 2.00 g (2.72 mmole)을 무수 CH_2Cl_2 100 ml에 용해시키고 －15℃ 이하에서 PCl_5 1.70g (8.16 mmole)을 가하고 30분동안 교반한 다음 피리딘 0.66 ml (8.16 mmole)를 반응액 중으로 점적하고 －15～10℃에서 2시간동안 교반하였다. 이 반응액을 －50℃에서 무수메탄올 15 ml를 가하고 －50℃에서 2시간, 실온에서 1시간 반응시켰다. 반응종결 후 CH_2Cl_2로 희석하고 물로 세척하여 가수분해 시킨 다음 포화 $NaHCO_3$수용액으로 중성으로 조절한 후 유기층을 물로 수차례 세척하고 건조시킨 것을 감압농축하여 목적화합물 0.68g (수율 : 40.5%)을 얻었다. TLC(n-헥산 : 에칠아세테이트= 1 : 2); Rf=0.71, 융점 : 106～107℃, ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, δppm) : 3.55(ABq, C_2-2H), 3.75(d, piperazine-2H), 3.85(bs, piperazine-4H), 4.40(bs, piperazine-2H), 4.50 (ABq, C_3'-2H), 4.91(d, C_7-1H), 5.08(m, C_6-1H), 6.75(d, pyridine-1H), 6.83(d, pyridine-1H), 6.89(s, Ph_2CH-1 H), 7.25(m, Ph_2-10H), 7.75(t, pyridine-1H), 8.19(dd, pyridine-1H).

Diphenylmethyl 7-amino-3-[4-(2-pyrimidyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylate (C10)의 합성－TLC(n-헥산 : 에칠아세테이트=1 : 2); Rf=0.62, 융점 : 145～146℃, ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, δppm) : 3.65(s, C_2-2H), 3.70(q, piperazine-4H), 3.95 (bs, piperazine-4H), 4.40(bs, piperazine-2H), 4.55 (ABq, C_3'-2H), 4.80(d, C_7-1H), 4.95(d, C_6-1H), 6.69(t, pyrimidine-1H), 6.98(s, Ph_2CH-1H), 7.30(m, Ph_2-10 H), 8.35(d, pyrimidine-2H).

Diphenylmethy 7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyridyl)piperazi-

nyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylate (C11)의 합성－0℃에서 질소가스를 통하면서 2-aminothiazole-4-yl-2-methoxyiminoacetic acid 2.31g (11.48 mmole)을 N, N-디메칠포름아마이드 150 ml에 용해시키고 0℃ 이하에서 트리에칠아민 1.38 ml (9.90 mmole)을 가하고 30분동안 교반시켰다. －10℃에서 6-trifluoromethyl-1-methanesulfonyloxy-1,2,3-benzotriazole (FMS) 2.79g (9.92 mmole)을 가하고 1시간동안 교반시킨 다음 C9 5.00g (8.09 mmole)을 N, N-디메칠포름아마이드 40 ml에 용해시켜 적가하고 －10～10℃에서 2시간동안 교반시켰다. 반응종결 후 에칠아세테이트/얼음 물을 가하고 －10℃에서 포화 $NaHCO_3$ 수용액으로 중성으로 조절하여 목적물을 추출한 후 관 크로마토그라피(n-헥산 : 에칠아세테이트＝1 : 3) 법으로 분리하여 목적화합물 3.00g (수율 : 46.3%)을 얻었다. TLC (n-헥산 : 에칠아세테이트＝1 : 3); Rf＝0.51, 융점; 134～135℃, ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, δppm): 3.65 (ABq, C_2-2H), 3.75 (d, piperazine-2H), 3.81 (d, piperazine-2H), 4.03 (bs, piperazine-2H), 4.43 (bs, piperazine-2H), 4.58 (ABq, C_3'-2H), 4.97 (d, C_6-1H), 6.02 (q, C_7-1H), 6.63 (d, pyrine-1H), 6.73 (m, pyridine-1H), 6.96 (s, Ph_2CH-1H), 8.01 (t, pyridine-1H), 8.21(dd, pyridine-1H).

Diphenylmethy 7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyrimidyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylate (C12)의 합성－TLC (n-헥산 : 에칠아세테이트＝1 : 3); Rf＝0.47, 융점 : 149～150℃, ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, δppm): 3.65 (ABq, C_2-2H), 3.75 (dd, piperazine-2H), 3.92(bs, piperazine-4H) 3.98 (s, ＝$NOCH_3$, 3H), 4.39 (bs, piperazine-2H), 4.59 (ABq, C_3'-2H), 5.07 (d, C_6-1H), 5.67 (bs, NH_2-2H), 6.03 (q, C_7-1H), 6.57 (t, pyrimidine-1H), 6.78 (s, thiazole-1H), 6.95 (s, Ph_2CH-1H), 7.38 (m, Ph_2-10H), 7.98 (d, NH-1H), 8.33 (m, pyrimidine-2H).

7-[(Z)-2-(2-Aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyridyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid (CEN1)의 합성－① －10℃에서 C11 1.00g (1.25 mmole)을 무수 CH_2Cl_2 8 ml에 용해시키고 trifluoroacetic acid 0.92 ml (11.94 mmole)과 anisole 0.26 ml (2.39 mmole)을 가한 다음 －10℃에서 1시간, 실온에서 3시간 교반시켰다. 이를 감압농축하여 반응액이 2～3 ml 남았을 때 빙냉한 이소프로필 에텔에 적가하여 생성되는 침전물을 여과하고 이소프로필 에텔로 세척하여 얻은 고형물을 에칠아세테이트 : 5%-$NaHCO_3$ 수용액 (3 : 2) 50 ml에 용해시키어 에칠아세테이트로 세척한 다음 5%-HCl로 pH 3.0으로 조절하고 에칠아세테이트로 목적물을 추출하여 포화소금물 및 물로 세척하고 $MgSO_4$로 건조시키어 감압농축한 액에 n-헥산을 가해 결정화하여 목적화합물 0.05 g (수율 : 6.30%)을 얻었다. TLC (메탄올 : 아세토니트릴＝1 : 2); Rf＝0.76, 융점 : 204℃ (dec.), IR (KBr, cm^{-1}): 1768 (C＝O, β-lactam), ^{1}H-NMR (DMSO-d_6, δppm): 3.60 (ABq, C_2-2H), 3.85 (s, ＝$NOCH_3$, 3H), 4.08(bs, piperazine-2H), 4.31 (bs, piperazine-2H), 4.48 (ABq, C_3'-2H), 5.18 (d, C_6-1H), 5.80 (q, C_7-1H), 6.68 (t, pyridine-1H), 6.75 (s, thiazole-1H), 6.81 (d, pyridine-1H), 7.28 (s, NH_2-2H), 7.57 (t, pyridine-1H), 8.15 (d, pyridine-1H), 9.62 (d, -NH-1H).

②실온에서 세포탁심 4.50g (9.88 mmole)을 물 50 ml에 현탁시키면서 포화 $NaHCO_3$수용액을 적가하여 용해시키고(pH 7.0) 물 20 ml를 추가하고 30분 동안 교반한 다음 R1 3.56g (12.83 mmole)을 가하고 40～45℃에서 72시간동안 반응시켰다. 이 반응액을 빙냉하에서 에칠아세테이트를 가하고 교반하면서 10%-HCl로 pH 3.0으로 조절하고 에칠아세테이트로 목적물을 추출하여 포화소금물 및 물로 세척하고 $MgSO_4$로 건조시키어 감압농축한 액에 디에칠 에텔을 가해 생성되는 침전물을 여과, 디에칠 에텔로 세척하고 건조시켜 목적화합물 0.08g을 얻고 에칠아세테이트로 추출하고 남은 고형잔유물에 메탄올을 가하여 목적물을 추출하고 감압농축한 다음 과량의 물을 가하고 강하게 1시간동안 교반시키고 여과하여 물로 수회 세척 및 건조시켜 목적화합물 3.39g (수율 : 55.3%)을 얻었다.

7-[(Z)-2-(2-Aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyrimidyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid (CEN2)의 합성－TLC (메탄올 : 아세토니트릴＝2 : 1); Rf＝0.48, 융점 : 219℃ (dec.), IR (KBr, cm^{-1}) : 1770 (C＝O, β-lactam), ^{1}H-NMR (DMSO-d_6, δppm): 3.60 (ABq, C_2-2H), 3.85 (s, ＝$NOCH_3$, 3H), 3.87 (bs, piperazine-4H), 4.05 (bs, piperazine-2H), 4.35 (bs, pipe-

razine-2H), 4.47 (ABq, C_3'-2H), 5.16 (d, C_6-1H), 5.79 (q, C_7-1H), 6.70 (t, pyrimidine-1H), 6.75 (s, thiazole-1H), 7.25 (s, NH_2-2H), 8.40 (d, pyrimidine-2H), 9.62 (d, -NH-1H).

Pivaloyloxymethyl 7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyridyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethy]-3-cephem-4-carboxylate (CEN1P)의 합성－CEN1 2.00g (3.15 mmole)을 질소가스를 통해 주면서 빙냉하에서 N,N-디메칠아세타마이드 45 ml에 용해시키고 디싸이클로헥실아민 0.7 ml를 가한 다음 요오도메칠 피발레이트 1.14g (4.71 mmole)을 적가하고 50분 동안 교반하였다. 반응종료 후 에칠아세테이트 70 ml를 가하고 생성된 침전물을 여과제거하고 여액을 10%-HCl과 포화 $NaHCO_3$수용액으로 세척 후 포화소금물 및 물로 세척하고 건조시켜 감압농축한 것을 관 크로마토그라피 (톨루엔 : 에칠아세테이트=1 : 2)법으로 분리하여 목적화합물 0.51 g (수율 : 21.6%)을 얻었다. TLC (n-부탄올 : 초산 : 물=4 : 1 : 1); Rf=0.47, 융점; 132～133℃, IR (KBr, cm^{-1}): 1780 (C=O, β-lactam), ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, δppm): 1.21 (s, -C(CH_3)$_3$, 9H), 3.67 (s, C_2-2H), 4.04 (s, =NOCH_3, 3H), 4.65 (ABq, C_3'-2H), 5.09 (d, C_6-1H), 5.50 (bs, NH_2-2H), 5.92 (ABq, -CH_2OCO-2H), 6.00 (q, C_7-1H), 6.65 (d, pyridine-1H), 6.72 (d, pyridine-1H), 6.79 (s, thiazole-1H), 7.54 (t, pyridine-1H), 7.73 (d, NH-1H), 8.21 (d, pyridine-1H).

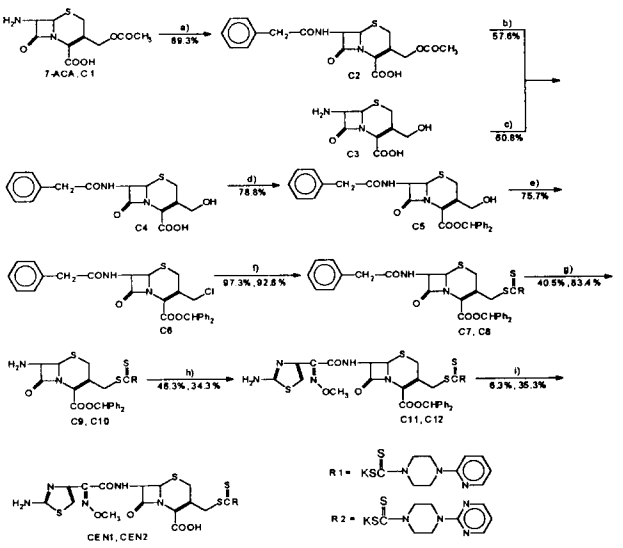
Pivaloyloxymethyl 7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyrimidyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl]-3-cephem-4-carboxylate (CEN2P)의 합성－TLC (톨루엔 : 에칠아세테이트=1 : 2); Rf=0.22, 융점 : 143～144℃, IR (KBr, cm^{-1}): 1780 (C=O, β-lactam), ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, δppm): 1.19 (s, -C(CH_3)$_3$, 9H), 3.65 (s, C_2-2H), 4.02 (s, =NOCH_3, 3H), 4.62 (ABq, C_3'-2H), 5.07 (d, C_6-1H), 5.54 (bs, －NH_2-2H), 5.88 (ABq, -CH_2OCO-2H), 6.04 (q, C_7-1H), 6.55 (t, pyrimidine-1H), 6.73 (s, thiazole-1H), 7.95 (d, NH-1H), 8.33 (d, pyrimidine-2H).

최소발육저지농도의 측정[2,22,23]－시험균주의 배양은 *Streptococcus*균들은 Mueller-Hinton agar에 양의 혈액을 10%가 되도록 첨가하여 petri dish에서 배양하였고 그 외의 17종의 균들은 Mueller-Hinton agar slant에서 배양시켜 사용하였다. 최소발육저지농도 측정시 *Streptococcus*균들은 fleisch extract broth에 10%의 말 혈청을 첨가했으며 그 외의 균들은 fleisch extract broth에서 배양시켜 실험하였다. 시험균주는 일차검색에 사용되는 20종의 균주를 사용하였고 균주의 정도관리(精度管理)는 매번 최소발육저지농도를 측정할 때마다 표준항생물질의 MIC값과 비교하여 균주의 정도관리를 실시하였으며 CEN1과 CEN2의 실험시 표준항생물질로 주사제인 세포탁심과 경구용 세파클러를 사용하여 평판배지희석법으로 실험하였다. 실험 방법은 각각의 시료를 단계별로 희석하여 최종항생물질의 농도가 100, 50, 12.5, 6.25, 3.125, 1.563, 0.781, 0.391, 0.195, 0.089, 0.049, 0.025, 0.013, 0.007, 0.004, 0.002 (μg/ml)가 되도록 제조하였다. 여기에 배양 중인 20종의 시험균의 농도를 조절한 다음 각각의 시험균을 inoculation tray에 넣고 automatic inoculator를 이용하여 10^4 CFU/spot을 접종하고 37℃에서 18시간 배양한 후 육안으로 관찰하여 억제된 항생물질의 최소발육저지농도를 정하였다.

결과 및 고찰

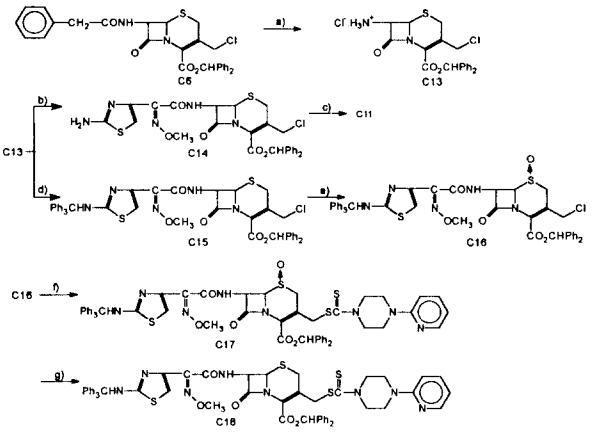
화합물의 합성－세팔로스포린을 약물설계 할 때 C-3위치의 치환기 도입에는 여러가지 사항을 고려해야 하는데[24] 첫째는 안정성으로 C-3위치의 작용기와 세팔로스포린의 항균력 사이에는 C-3위치 혹은 C-3′위치에 전자를 잡아당기는 기를 가질 때 베타락탐고리가 활성화 되어 항균력이 증가한다. 그러나 베타락탐고리가 너무 활성화되어 중성용액에서도 쉽게 파괴되면 항균력을 기대하기 어렵기 때문에 안정도를 고려해야 한다. 둘째는 C-3위치의 치환기의 종류에 따라 친유성이 변하게 되며 또한 항균력도 밀접한 관계를 나타낸다. 세째는 C-3위치의 치환기의 변화에 따라 경구흡수에도 관계가 있어서 경구흡수도가 변화된다. 따라서 C-3위치에 화합물 자체로도 항균력이 있는 피페라진기를 도입하였는데 이 피페라진기는 기존 합성항생제인 퀴놀론의 C-7위치에 다양하게 응용되고 있는데 그 예로 시판 퀴놀론제제로 노르플록사신과 시프로플록사신 등을 들 수 있다. 피리딘기는 세팔로스포린계 항생제 중에서 제1세대의 세팔로리딘, 제3세대의 세프타지딤, 재4세대의 세프피롬 그 밖에 세프피미졸, 세프슬로딘 등 제1세대부터 제4세대까지

광범위하게 응용되고 있는 물질이며 피리미딘 역시 아민의 제공기로서 친수성을 나타내어 용해도를 개선하여 흡수를 촉진시킬 수 있으며 피리딘도 피리미딘과의 비교목적 및 항균력과 흡수에 필요할 것으로 생각되어 이들을 각각 피페라진과 조합하여 헤테로싸이클로 하였다. 이것은 C-3위치에 헤테로싸이클 화합물로 치환시킬 때 극성이 강한 작용기로 인해 항균력이 증가하게되고 구조적으로 큰 작용기가 도입됨으로서 체내에 있는 효소에 의해 항생제가 비활성화될 가능성이 극소화되는 성질을 응용한 것이다. 이와같이 설계하게된 헤테로싸이클 화합물에 대한 세팔로스포린의 C-3와 C-3′ 치환반응는 수용액 상태에서 C-3′ 아세톡시기의 친핵성 치환반응이 S-친핵성에서 쉽게 진행되는 반면 N-, O-, P- 및 C-친핵성에서는 수율이 떨어진다.[25,26] 7-아미노세팔로스포란산(7-ACA)에서의 C-3′ 치환반응은 산의 첨가 또는 무수용매하에서 루이스 산의 첨가로 얻어지게 되며 C-3′ 위치가 할로겐일 때는 매우 좋은 leaving group으로 작용하게 된다.[27,28] 따라서 C-3′ 위치의 아세톡시 치환반응은 S-친핵성으로 설계하였으며 C-7위치의 치환기는 2-아미노치아졸메톡시이미노기를 도입하였는데 이는 2-아미노치아졸 부분과 메톡시이미노기를 조합시키므로서 상승효과에 의한 항균력과 항균스펙트럼 및 β-lactamase에 대한 저항성을 향상시킬 목적이었다. 이와 같이 설계한 CEN1과 CEN2의 합성방법은 3가지 방법으로 시행하였다. 첫째는 7-ACA (C1)에서 페닐아세칠 클로라이드로 C-7위치를 보호한 다음 NaOH로 가수분해하여 C4를 얻고 C-4위치의 카르복실 산기를 디페닐메칠기로 보호한 후 C-3위치의 반응성을 좋게 할 목적으로 $SOCl_2$를 사용하여 C6를 얻었다. R1 및 R2로 S-친핵성으로 작용시켜 C7 및 C8을 합성하고 C-7위치의 보호기를 제거하여 C9 및 C10을 얻었다. 계속하여 C-7위치에 아미노치아졸기를 도입하여 C11 및 C12를 합성한 후 C-4위치의 보호기를 제거하여 CEN1과 CEN2를 얻었다.(Scheme 1) 둘째는 첫째 방법과 동일하게 출발하여 C6에서 변화시킨 방법으로 합성진행 중 보호기를 더 도입하고 C-3위치 및 C-7위치의 변환순서를 달리한 것으로 C6에서 C13을 합성하여 C-7위치의 보호기를 제거한 후 C13에서 아미노치아졸기를 C-7위치에 붙여 C14를 합성한 다음 C-3위치에 R1으로 치환반응을 시켜 C11을 얻는 경로와 C13에서 아민기가 보호된 트리틸아미노치아졸기를 C-7위치에 붙여 C15를 합성한 다음 *m*-CPBA를 가해 C16을 얻고 R1을 도입하여 C17을 합성한 후 아세틸 클로라이드와 반응시켜 얻은 C18에서 보호기를 제거하여 CEN1을 얻었다.(Scheme 2) 세째로 세포탁심의 C-3위치의 아세톡시메칠기에 S-친핵성 치환반응을 시키기 위해 R1과 R2로 직접 치환하여 CEN1과 CEN2를 얻었다.(Scheme 3) 이때 수율은 반응종료 후 일반적인 과정을 거치면 CEN1과 CEN2가 각각 1.3%와 7.3%로 낮게 얻어지는데 이는 목적화합물이 에칠아세테이트에 극히 소량만 용해되기 때문이다. 따라서 목적화합물의 물리화학적 특성을 이용하여 메탄올로 목적물을 추출하여 CEN1과 CEN2의 수율을 각각 55.3%와 52.7%로 올릴 수 있었다. 이것은 디페닐메칠기로

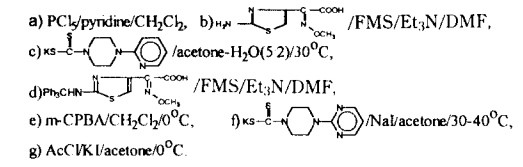


Scheme 1 — Synthesis of 7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyridyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid (CEN1) and 7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyrimidyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid (CEN2).

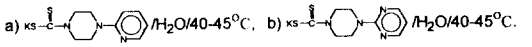
a) $ClCH_2COCl$ / acetone/0°C, f) KS—C(=S)—R/ KI /acetone/ r.t.,
b) NaOH/CH_3OH-H_2O/-20°C, g) PCl_5 /pyridine/CH_2Cl_2 / -15°C,
c) $ClCH_2COCl$ / acetone/0°C, h) /FMS/ Et_3N/ DMF/-10°C,
d) $(C_6H_5)_2C{=}N^+{=}N^-$/EtOAc /r.t., i) TFA/anisole/CH_2Cl_2/0°C.
e) $SOCl_2$/THF/-25°C,



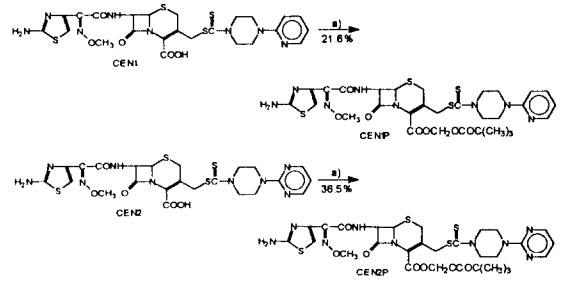
Scheme 2—The synthetic route of compound C18 from C13.



Scheme 3—Synthesis of 7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyridyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid (CEN1) and 7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyrimidyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid (CEN2) from cefotaxime.



C-4위치를 보호하고 반응시켜 얻은 목적화합물의 수율이 0.4～2.7%임과 비교할 때 직접 C-3위치에 치환시키는 방법이 수율을 증가시키고 시간을 단축할 수 있는 것으로 나타났다. 또한 CEN1과 CEN2의 경구흡수를 증가시킬 목적으로 C-4위치의 카르복실 산에 요오드메칠피발레이트로 에스터화한 프로드럭을 합성하였다.(Scheme 4)



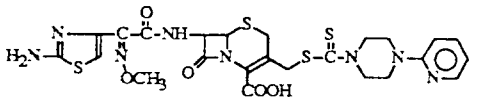
Scheme 4—Synthesis of pivaloyloxymethyl 7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyridyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid (CEN1P) and pivaloyloxymethyl 7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyrimidyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid (CEN2P).
a) $ICH_2OCOC(CH_3)_3$/N, N-dimethylacetamide/dicyclohexylamine/0℃.

최소발육저지농도의 측정—CEN1과 CEN2에 대한 항균력 측정에서 표준항생물질로 경구용 세팔로스포린인 세파클러와 주사제용인 세포탁심을 사용하여 실험한 결과 CEN1과 CEN2가 그람양성균인 *Streptococcus pyogenes*에서는 뛰어난 항균력 (CEN1의 MIC : <0.002～0.004 μg/ml, CEN2의 MIC:<0.002 μg/ml)을 나타내어 세파클러의 항균력보다 훨씬 강하게 나타났고 세포탁심과는 동등 이상의 항균력을 나타냈다. *Streptococcus faecium* MD 8b에서 CEN2의 항균력은 세파클러 및 세포탁심의 항균력보다 강하게 나타났다. 또한 *Staphylococcus aureus*에서도 CEN1의 항균력 (MIC : 1.563～3.125 μg/ml)과 CEN2의 항균력 (MIC : 0.781～1.563 μg/μl)이 매우 강하게 나타나 세파클러 및 세포탁심의 항균력과 비슷하게 나타났다.

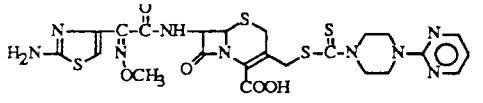
그람음성균인 *Escherichia coli*에서 CEN1의 항균력은 (MIC : 0.098～1.563 μg/ml)과 CEN2의 항균력은 (MIC : 0.025～0.391 μg/ml)로써 강한 항균력을 가지고 있어서 세파클러의 항균력보다 강하게 나타났으나 세포탁심보다는 항균력이 약하게 나타났고 CEN1보다는 CEN2의 항균력이 좋은 것으로 나타났다. 그람음성균인 *Pseudomonas aeruginosa*에 대한 CEN1의 항균력은 (MIC : 1.563～>100.000 μg/ml)이고 CEN2의 항균력은 (MIC : 0.781～>25.000 μg/ml)를 나타내

Table I—Antibacterial activity (MIC) of 7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyridyl) piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid (CEN1) and 7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyrimidyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid (CEN2)

Substance: CEN1, CEN2, Cefaclor, Cefotaxime



CEN1



CEN2

No.	Strains	CEN1	CEN2	Cefaclor	Cefotaxime
1	*Streptococcus pyogenes* 308 A	0.004*	<0.002	0.049	0.007
2	*Streptococcus pyogenes* 77 A	<0.002	<0.002	0.013	<0.002
3	*Streptococcus faecium* MD 8b	>100.000	>25.000	>50.000	>100.000
4	*Staphylococcus aureus* SG 511	1.563	1.563	1.563	1.563
5	*Staphylococcus aureus* 285	1.563	0.781	0.391	1.563
6	*Staphylococcus aureus* 503	3.125	1.563	3.125	1.563
7	*Escherichia coli* O 78	0.781	0.195	0.781	0.013
8	*Escherichia coli* DC 0	1.563	0.391	0.781	0.025
9	*Escherichia coli* DC 2	0.098	0.025	1.563	0.025
10	*Escherichia coli* TEM	0.781	0.391	1.563	0.025
11	*Escherichia coli* 1507E	0.098	0.391	0.781	0.049
12	*Pseudomonas aeruginosa* 9027	>100.000	>25.000	>100.000	25.000
13	*Pseudomonas aeruginosa* 1592E	>100.000	>25.000	>100.000	12.500
14	*Pseudomonas aeruginosa* 1771	50.000	>25.000	>100.000	6.250
15	*Pseudomonas aeruginosa* 1771M	1.563	0.781	12.500	0.049
16	*Salmonella Ryphimurium*	0.781	0.781	0.781	0.098
17	*Klebsiella oxytoca* 1082E	6.250	6.250	>100.000	0.781
18	*Klebsiella aerogenes* 1522E	0.391	0.195	0.391	0.049
19	*Enterobacter cloacae* P99	>100.000	>25.000	>100.000	100.000
20	*Enterobacter cloacae* 1321E	0.195	0.098	0.391	0.098

*μg/ml

어 세파클러의 항균력보다 우수하지만 세포탁심보다는 항균력이 낮았다. 이는 *Pseudomonas aeruginosa*에 대한 항균력 비교에서 세팔로스포린의 C-3위치의 치환체의 부피가 클수록 항균력은 급격히 감소하는 이론과 일치함을 보여주고 있다. *Salmonella typhimurium*에 대해서는 CEN1과 CEN2의 MIC값이 0.781 μg/ml로 강한 항균력을 나타내어 세파클러의 항균력과 동일하였으나 세포탁심의 항균력보다는 약하게 나타났다. 그 밖에 *Klebsiella* 균주들에 대해서는 CEN 1의 항균력보다 CEN2의 항균력이 조금 우세하였으며 세파클러의 항균력보다는 CEN1 및 CEN2가 강했으나 세포탁심의 항균력보다는 낮았다. *Enterobacter cloacae*에서는 CEN2의 항균력 (MIC : 0.098～>25.000 μg/ml)이 CEN1, 세파클러 및 세포탁심보다 조금 강하게 나타났으며 CEN1의 항균력은 세파클러 및 세포탁심과 비슷하였다.(Table I)

표준 20균주에 대한 CEN1 및 CEN2의 항균력은 CEN2가 CEN1보다 동등 이상의 항균력을 나타냈고 CEN1과 CEN2 모두 경구용 항생제인 세파클러의 항균력보다 우수했으며 세포탁심과 비교해 볼때에도 항균력이 비슷하거나 약간 떨어지나 전체적으로 좋은 항균활성을 나타냈다.

결 론

1. 7-ACA와 세포탁심을 각각 출발물질로하여 피

리딜 피페라진과 피리미딜 피페라진의 디치오카바메이트 포타시움 염과 반응시켜 새로운 형태의 세팔로스포린인 7-[(Z)-2-(2-Aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyridyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid (CEN 1)와 7-[(Z)-2-(2-Aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyrimidyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid (CEN2)를 합성하였다. 이때 S-친핵성을 이용한 세포탁심의 C-3 치환이 반응성이 좋으며 C-4위치의 카르복실 산기를 디페닐메칠기로 보호하여 목적화합물을 얻은 것에 비해 시간단축과 수율을 증가시킬수 있었다. 또한 CEN1과 CEN2의 경구흡수를 증가시킬 목적으로 C-4위치의 카르복실 산기에 피발로일옥시메칠기로 에스터화한 Pivaloyloxymethyl-7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyridyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylate (CEN1P)와 Pivaloyloxymethyl-7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyrimidyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylate (CEN2P)를 합성하였다.

2. CEN1 및 CEN2의 항균력을 알아보기 위해 *in vitro*에서 6종의 그람양성균 및 14종의 그람음성균에 대한 최소발육저지농도를 측정한 결과 CEN1과 CEN 2는 세파클러보다 좋게 나타났고 세포탁심에 비해서는 약간 낮은 활성을 나타냈으며 피리미딜 피페라진기를 가진 CEN2가 피리딜 피페라진기를 가진 CEN1보다 동등 이상의 항균력을 나타냈다.

감사의 말씀

본 연구를 수행하는 동안 NMR분석에 도움을 주신 한국화학연구소의 강호철씨와 MIC실험에 도움을 주신 의약활성실의 공재양 박사님과 방종숙씨께 감사드립니다.

문 헌

1) Durckheimer, W., Blumbath, J., Lattrell, R. and Scheunemann, K. H.: Resent developments in the field of β-lactam antibiotics, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **24**, 180 (1985).

2) Demain, A. L. and Solomon, N. A., Eds., Antibiotics, containing the beta-lactam structure, part I, II, Springer-Verlag Berlin Heidelberg (1983).

3) Takaya, T., Tozuka, Z., Takasugi, H., Kamiya, T. and Nakano, H.: Studies on β-lactam antibiotics. V. Effect on antimicrobial activity of 2- and/or 3-methyl group(s) in a cephem nucleus, *J. Antibiot.*, **35**, 585 (1982).

4) (1) Lattrell, R., Blumbath, J., Durckheimer, W., Fehlhaber, H., Fleischmann, K., Kirrstetter, R., Mencke, B., Scheunemann, K., Schrinner, E., Schwab, W., Seeger, K., Seibert, G. and Wieduwilt, M.: Synthesis and structure-activity relationships in the cefpirome series. I. 7-[2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-(Z)-oxyiminoacetamido]-3-[(substituted-1-pyridinio) methyl]-ceph-3-em-4-carboxylates, *J. Antibiot.*, **41**, 1374 (1988).

(2) Lattrell, R., Blumbath, J., Durckheimer, W., Fleischmann, K., Kirrstetter, R., Klesel, N., Mencke, B., Scheunemann, K., Schwab, W., Seliger, H., Stache, U. and Winkler, I.: Synthesis and structure-activity relationships in the cefpirome series. II. Analogues of cefpirome with different 7-Heteroarylacetamido and 3'-ammonium substituents, *J. Antibiot.*, **41**, 1395 (1988).

(3) Lattrell, R., Durckheimer, W. and Limbert, M.: Synthesis and structure-activity relationships in the cefpirome series. III. 7α-methoxy and 7α-formamido analogues of cefpirome, *J. Antibiot.*, **41**, 1409 (1988).

5) Wick, W. E.: *In vitro* and *in vivo* laboratory comparison of cephalothin and desacetyl cephalothin, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1965**, 870 (1966).

6) Paschel, J. W., Dorman, D. E., Srinivasan, P. R. and Lichter, R. L.: Nuclear magnetic resonance spectroscopy carbon-13 and nitrogen-15 spectra of the penicillins and cephalosporins, *J. Org. Chem.*, **43**, 2013 (1978).

7) Crast, L. B., Jr., Graham, R. G. and Cheney, L. C.: Synthesis and cephapirin and related cephalosporins from 7-(α-bromoacetamido)cephalosporanic acid, *J. Med. Chem.*, **16**, 1413 (1973).

8) Spencer, J. L., Flynn, E. H., Roeske, R. W., Siu, F. Y. and Chauvette, R. R.: Chemistry of cephalos-

porin antibiotics. VII. Synthesis of cephaloglycin and some homologs, *J. Med. Chem.*, **9**, 746 (1966).

9) Ochiai, M., Morimoto, A., Miyawaki, T., Matsushita, Y., Okada, T., Natsugari, H. and Kida, M.: Synthesis and structure-activity relationships of 7β-[2-(2-aminothiazol-4-yl)acetamido]cephalosporin derivatives V. Synthesis and antibacterial activity of 7β-[2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido] cephalosporin derivatives ad related compounds, *J. Antibiot.*, **34**, 171 (1981).

10) Gupa, V. D.: Stability of cefotaxime sodium as determined by high performance liquid chromatography, *J Pharm. Sci.*, **73**, 565 (1984).

11) Macdonald, C. M., Fromson, J. M., Mcdonald, A., Dell, D., Chamberlain, J. and Coombes, J. D.: Disposition of cefotaxime in rat, dog and man, *Arzneim-Forsch./Drug Res.*, **34**, 1719 (1984).

12) Macdonald, C. M., Mcdonald, A., Fromson, J. M. and Coombes, J. D.: Cefotaxime: Sites and pathway of metabolic conversion, *Arzneim-Forsch./Drug Res.*, **34**, 1729 (1984).

13) Wise, R., Wills, P. J., Andrews, J. M. and Bedford, K. A.: Activity of the cefotaxime (HR 756) desacetyl metabolite compared with those of cefotaxime and other cephalosporins, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **18**, 105 (1980).

14) Yasuda, K., Kurashige, S. and Mitsuhashi, S.: Cefroxadine (CGP-9000), an orally active cephalosporin, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **18**, 105 (1980).

15) Zak, O., Vischer, W. A., Schenk, C., Tosch, W., Zimmerman, W., Regos, J., Suter, E. R., Kradolfer, F. and Gelzer, J.: CGP 9000: A new orally active, broad-spectrum cephalosporin, *J. Antibiot.*, **29**, 653 (1976).

16) Chauvette, R. R.: Alpha-aminoacyl-3-halo cephalosporins, **U.S.Pat. 3,925,372** (1975).

17) Chauvette, R. R. and Pennington, P. A.: Chemistry of cephalosporin antibiotics. 30. 3-Methoxy- and 3-Halo-3-cephems, *J. Med. Chem.*, **18**, 403 (1975).

18) Takaya, T., Takasugi, H., Masugi, T., Yamanaka, H. and Kawabata, K.: 7-Acylamino-3-vinyl cephalosporanic acid derivatives and processes for the preparation thereof, **U.S.Pat. 4,409,214** (1983).

19) Yamanaka, H., Chiba, T., Kawabata, K., Takasugi, H., Masugi, T. and Takaya, T.: Studies on β-lactam antibiotics. IX. Synthesis and biological activity of a new orally active cephalosporin, cefixime (FX 027), *J. Antibiot.*, **38**, 1738 (1985).

20) Ryan, C. W., Simon, R. L. and Van Heyningen, E. M.: Chemistry of cephalosporin antibiotics. XIII. Desacetoxycephalosporins. The synthesis of cephalexin and some analogs, *J. Med. Chem.*, **12**, 310 (1969).

21) Chauvette, R. R., Pennington, P. A., Ryan, C. W., Cooper, R. D. G., Jose, F. L., Wright, I. G., Van Heyningen, E. M. and Huffman, G. W.: Chemistry of cephalosporin antibiotics. XXI. Conversion of penicillin to cephalexin, *J. Org. Chem.*, **36**, 1259 (1971).

22) Bauernfeind, A., Jungwirth, R., Isert, D., Klesel, N., Limbert, M., Markus, A., Horlein, R., Schrinner, E. and Seibert, G.: HR 916B, a New Oral Cephalosporin: II. Antiibacterial Activity *in vitro, 31st Interesci. Confer. Antimicrob. Agents Chemother.*, abstr. **836** (1991).

23) Utsui, Y., Inoue, M. and Motsuhashi, S.: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of CS-807, a new oral cephalosporin, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **31**, 1085 (1987).

24) Goo, Y. M., Edt.: Antibiotics, Seoul National University Press, Seoul (1983).

25) Durckheimer, W., Adam, F., Fisher, G. and Kirrstetter, R., Edts.: Synthesis and biological properties of newer cephem antibiotics, in "Frontiers in antibiotic research", Academic Press (1987).

26) Walker, D. G., Brodfuehrer, P. R., Brundidge, S. P., Shih, K. M. and Sapiro, C., Jr.: Use of bistrimethylsilylated intermediates in the preparation of semisynthetic 7-amino-3-substituted-cephems. Expedient syntheses of a new 3-[(1-methyl-1-pyrolidinio)methyl]-cephalosporin, *J. Org. Chem.*, **53**, 938 (1988).

27) Cowley, B. R., Humber, D. C., Laundon, B., Long, A. G. and Lynd, A. L.: Synthesis of 3-functionalised cephalosporins by photoinitiated bromination Transformations of 2,2,2-trichloroethyl 1S, 6R, 7R)-3-bromomethyl-7-formamido-ceph-3-em-4-carboxylate, 1-oxide, *Tetraherdon*, **39**, 461 (1993).

28) Skotnicki, J. S. and Strike, D. P.: Synthesis and antibacterial activity of C-3′ isothiazolyl and related cephalosporins, *J. Antibiotic.*, **39**, 380 (1986).
29) Mobashery, S., Lerner, S. A. and Johnston, M.: Conscripting β-lactamase for use in drug delivery. Synthesis and biological activity of a cephalosporin C_{10}-ester of an antibiotic dipeptide, *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 1685 (1986).