

## 7-[(3-메틸티오 또는 3-메틸티오메틸)피롤리디닐]퀴놀론-3-카르복실산의 합성과 항균작용

이재욱<sup>#</sup> · 강태충 · 이규삼 · 손호정 · 윤길중 · 유영효 · 김대영\*

<sup>#</sup>(주)대웅제약 중앙연구소, \*순천향대학교 화학과

(Received February 14, 1994)

## Synthesis and Antimicrobial Activity of 7-[(3-Methylthio or 3-Methylthiomethyl)pyrrolidinyl]quinolone-3-carboxylic Acid

Jae Wook Lee<sup>#</sup>, Tae Choong Kang, Kyu Sam Lee, Ho Jung Son, Geal Joong Yoon, Young Hyo Yu and Dae Young Kim\*

<sup>#</sup>R&D Center, Dae Woong Pharmaceutical Co. Ltd., 223-23 Sangdaewondong, Sungnam, Kyungido 462-120, Korea

\*Department of Chemistry, Soonchunhyang University, Onyang P.O. Box 97, Chungnam 336-600, Korea

**Abstract**—A number of 7-[(3-methylthio or methylthiomethyl)pyrrolidinyl]quinolone-3-carboxylic acids were synthesized by condensation of 7-fluoro substituted quinolone-3-carboxylic acid with 3-methylthiopyrrolidine or 3-methylthiomethylpyrrolidine. 3-Methylthiopyrrolidine or 3-methylthiomethylpyrrolidine which was prepared from N-benzyl-3-hydroxy pyrrolidine or 3-hydroxymethylpyrrolidine. The *in vitro* antimicrobial activity of them were tested against twenty species of Gram-positive or Gram-negative microorganisms. It showed remarkable antibacterial activity, particularly against Gram-positive microorganisms. Among those 1-cyclopropyl-6,8-difluoro-7-(3-methylthiomethylpyrrolidinyl)-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid (**7d**) and 1-cyclopropyl-6-fluoro-8-chloro-7-(3-methylthiomethyl pyrrolidinyl)-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid (**7f**) showed the most potent *in vitro* antibacterial activity.

**Keywords** □ 3-methylthiomethylpyrrolidine, 3-methylthiopyrrolidine, quinolone antibacterial, antibacterial activity.

1963년 nalidixic acid<sup>1)</sup>가 처음으로 요로감염 치료제로 임상에 사용된 이후, 보다 뛰어난 항균력과 광범위한 항균 스펙트럼을 갖는 퀴놀론계 항균제의 개발에 많은 연구가 진행되어 왔다.<sup>2)</sup> 이러한 연구의 일환으로 퀴놀론 모핵의 6번 위치에 불소, 7번 위치에 피페라진기가 도입된 norfloxacin,<sup>3)</sup> enoxacin,<sup>4)</sup> ciprofloxacin<sup>5)</sup> 및 ofloxacin<sup>6)</sup> 등의 퀴놀론계 항균제가 개발된 바 있으나, 이들은 Gram 음성균에 대한 항균력은 우수한데 비해 Gram 양성균에 대한 항균력은 상당히 뒤떨어진다.

이에 본 저자들은 구조-활성의 관계로부터 Gram 양성균에 대한 항균력을 증가시킬 목적으로 7번 위치에 치환될 3-메틸티오피롤리딘과 3-메틸티오메틸피롤리딘을 합성하고 이 아민을 이용해서 새로운 퀴놀론 유도체를 합성하여 항균활성을 검색하였다.

### 실 험

사용한 시약들은 Aldrich社와 Fluka, Janssen, Tokyo Kasei 그리고 동양화학 등의 전문시약회사 제품을 사용하였다. Thin layer chromatography(TLC)는

<sup>#</sup>본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

Kieselgel 60F254를 사용했고 Column chromatography에 사용된 silica gel은 70~230 mesh 입자크기이다. 용점은 Gallenkamp melting point apparatus를 이용하여 측정하였고 온도보정은 하지 않았다. NMR은 Brucker FT-80형을 사용하였고 Tetramethylsilane(TMS)를 내부 표준물질로 사용하였다.

**N-tert-Butoxycarbonyl-3-hydroxymethylpyrrolidine (2a)의 합성**—N-Benzyl-3-hydroxymethylpyrrolidine 6.7 g(0.035 mole)을 MeOH 50 ml에 녹인 후 10% Pd/C 1 g, ammonium formate 7 g을 가하고 실온에서 1일 동안 교반시킨 후 celite로 여과하여 여액을 농축한 후 dioxane 90 ml, 1N NaOH 40 ml, 증류수 20 ml를 넣고 0°C로 냉각하였다. 이 용액에 Di-tert-butylcarbonate 9 g(0.04 mole)을 dioxane 30 ml에 녹여 적가하였다. 실온에서 12시간 교반하고 EtOAc(50 ml×3)로 추출하였다. 유기층을 MgSO<sub>4</sub>로 건조시키고 감압농축하여 황갈색 유상의 목적 화합물 5 g을 얻었다(수율=85%).

<sup>1</sup>H NMR(ppm, CDCl<sub>3</sub>): δ1.45(9H, s), 1.56~2.47(3H, m), 2.97~3.61(6H, m).

**N-tert-Butoxycarbonyl-3-[(methanesulfonyl)oxymethyl]pyrrolidine(3a)의 합성**—N-tert-Butoxycarbonyl-3-hydroxymethylpyrrolidine 5 g(0.025 mole)을 디클로로메탄 80 ml에 녹인 후 트리에틸아민 4 ml(0.029 mole)를 첨가하고 -5~-10°C로 냉각하였다. 메탄술포닐 클로라이드 3.3 g(0.029 mole)을 디클로로메탄 20 ml에 녹인 용액을 10분 동안 적가하였고, 상온에서 10시간 교반하고 증류수 80 ml를 가하였다. 상온에서 30분간 교반 후 유기층을 분리하여, 10% NaHCO<sub>3</sub> 용액으로 세척하고 MgSO<sub>4</sub>로 건조하였다. 용액을 감압농축한 후 크로마토그래피(에틸아세테이트 : 디클로로메탄=1 : 1)를 사용하여 목적물을 분리하였다. 분리액을 감압농축하여 황갈색 유상의 목적화합물 5.9 g을 얻었다(수율=85%).

<sup>1</sup>H NMR(ppm, CDCl<sub>3</sub>): δ1.45(9H, s), 1.48~2.70(3H, m), 3.03(3H, s) 3.10~3.57(4H, m), 4.20(2H, dd, J=0.96, 6.8 Hz).

**N-tert-Butoxycarbonyl-3-methylthiomethylpyrrolidine(4a)의 합성**—N-tert-Butoxycarbonyl-3-[(methanesulfonyl)oxymethyl]pyrrolidine 2.8 g (0.01 mole)과 소디움티오메톡사이드 0.74 g(0.01 mole)을 무수 디메틸포름아미드 30 ml에 녹인 후 80°C에서 4시간 교반하고 상온으로 냉각하였다. 증류수 50 ml를 가하고

디에틸에테르(50 ml×2)로 추출하였고, 유기층을 MgSO<sub>4</sub>로 건조시키고 감압농축하였다. 모액을 크로마토그래피(디에틸에테르: n-헥산=4 : 1)를 사용하여 목적물을 분리하였다. 분리액을 감압농축하여 황갈색 유상의 목적화합물 2.05 g을 얻었다(수율=88%).

<sup>1</sup>H NMR(ppm, CDCl<sub>3</sub>): δ1.45(9H, s), 1.61~2.36(3H, m), 2.12(3H, s) 2.51(2H, d, J=0.47 Hz), 2.81~3.82(4H, m).

**3-Methylthiomethylpyrrolidine TFA염(5a)의 합성**—N-tert-Butoxycarbonyl-3-methylthiomethylpyrrolidine(1 mmole), anisole (100 mg)에다 trifluoroacetic acid 3 ml을 0°C에서 가한 후 상온에서 2시간 교반하였다. 반응액을 감압농축한 후, n-헥산(5 ml×4회)로 씻어준 후 감압농축하게 되면 정량적인 수율로 탈보호된 생성물(5a)을 얻을 수 있었다.

<sup>1</sup>H NMR(ppm, CDCl<sub>3</sub>/D<sub>2</sub>O): δ1.59~2.48(5H, m), 2.13(3H, s), 2.98~3.86(4H, m).

**N-tert-Butoxycarbonyl-3-hydroxypyrrolidine(2b)의 합성**—N-Benzyl-3-hydroxypyrrolidine(1b)을 출발물질로 해서 N-tert-Butoxycarbonyl-3-hydroxymethylpyrrolidine(2a)의 합성방법과 동일한 방법으로 상기화합물을 황갈색 유상으로 얻었다.

<sup>1</sup>H NMR(ppm, CDCl<sub>3</sub>): δ1.44(9H, s), 1.85~1.94(2H, m), 3.35~3.54(4H, m) 3.74(1H, s), 4.40(1H, m).

**N-tert-Butoxycarbonyl-3-[(methanesulfonyl)oxy]pyrrolidine(3b)의 합성**—화합물(2b)을 출발물질로 해서 화합물(3a) 제조방법과 동일한 방법으로 상기화합물을 황갈색 유상으로 얻었다.

<sup>1</sup>H NMR(ppm, CDCl<sub>3</sub>): δ1.46(9H, s), 1.99~2.31(2H, m), 3.04(3H, s) 3.36~3.64(4H, m), 5.17~5.30(1H, m).

**N-tert-Butoxycarbonyl-3-methylthiopyrrolidine(4b)의 합성**—화합물(3b)을 출발물질로 해서 화합물(4a) 제조방법과 동일한 방법으로 상기화합물을 황갈색 유상으로 얻었다.

<sup>1</sup>H NMR(ppm, CDCl<sub>3</sub>): δ1.46(9H, s), 1.68~2.38(3H, m), 2.13(3H, s), 3.14~3.74(4H, m).

**3-Methylthiopyrrolidine TFA염(5b)의 합성**—화합물 4a의 탈보호 방법과 동일한 방법으로 시행하였다.

<sup>1</sup>H NMR(ppm, CDCl<sub>3</sub>/D<sub>2</sub>O): δ1.62~2.44(3H, m), 2.13(3H, s), 3.09~3.81(4H, m).

**Quinolone 유도체 합성**—Quinolone 유도체 합성은

아래와 같은 일반적인 방법으로 합성하였다. Quinolone 모핵 1당량을 아세트니트릴 용매에 현탁시킨 후 DBU 1당량을 가하여 10분간 교반시킨 후 C-7 아민 2당량과 트리에틸아민 3당량을 아세트니트릴 용매와 혼합후 상기 용액에 가하였다. 60°C 내외 또는 환류하에서 6시간에서 48시간 반응시키고 상온으로 온도를 내린후 석출된 결정을 여과하여 디에틸에테르로 씻어주고 건조하여 목적물을 얻었다.

### 결과 및 고찰

**합성**—퀴놀론 유도체로서 7번 위치에 3-methylthiopyrrolidine과 3-methylthiomethylpyrrolidine이 치환된 유도체를 합성하여 항균제로서의 활성을 검색하였다. 3-Methylthiopyrrolidine과 -methylthiomethylpyrrolidine은 Scheme I에 나타나 있는 바와 같이 합성을 하였다.

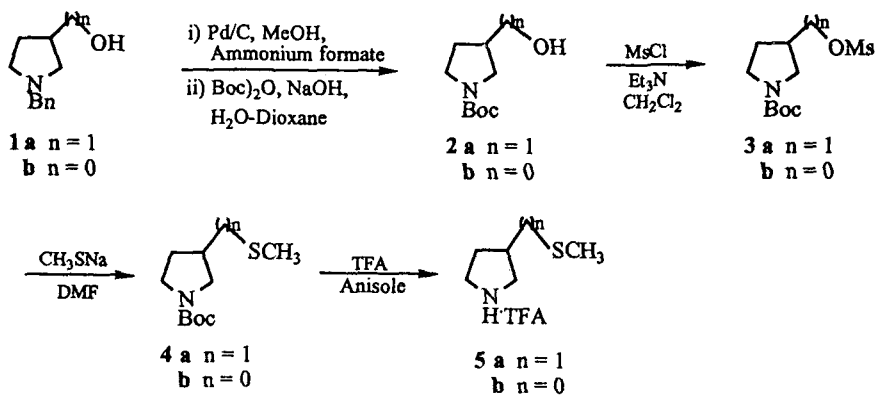
**3-Methylthiomethylpyrrolidine의 합성**—Scheme I에 있는 바와 같이, N-benzyl 3-hydroxymethylpyrrolidine<sup>7)</sup> (1a)을 출발물질로 해서 벤질기를 탈보호<sup>8)</sup>시키고 BOC group으로 보호<sup>8)</sup> 시켜서 (2a)번 화합물

을 만든 후 트리에틸아민과 메탄술폰닐 클로라이드와 반응시켜 화합물(3a)을 만든다. 화합물(3a)와 소듐티오메톡사이드를 디메틸포름아미드에서 반응시켜 화합물(4a)을 얻고, 이것을 Trifluoroacetic acid(TFA)로 탈보호<sup>8)</sup>시켜 목적화합물을 TFA 염(5a)으로 합성하였다.

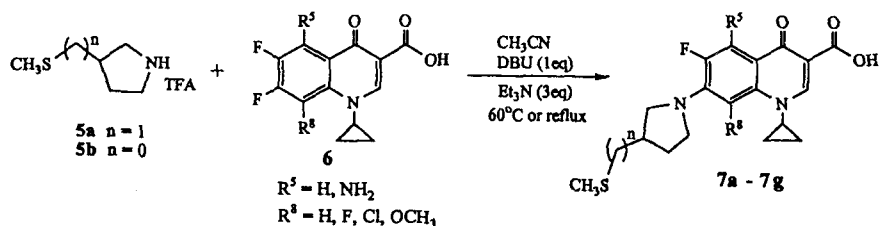
**3-Methylthiopyrrolidine의 합성**—Scheme I에 있는 바와 같이, N-benzyl 3-hydroxypyrrrolidine(1b)를 출발물질로 해서 3-methylthiomethylpyrrolidine의 합성과 동일한 방법으로 목적화합물을 TFA염(5b)으로 합성하였다.

**Quinolone 유도체 합성**—Quinolone 모핵 합성은 문헌에 알려진 방법에 의해서 합성하였다.<sup>9-12)</sup> Quinolone 모핵과 C-7 아민 치환체와의 반응은 Scheme II에 나타나 있는 바와 같이 아세트니트릴 용매에서 1,8-diazabicyclo[5.4.0]-undec-7-ene(DBU) 1당량, C-7 아민 2당량, 트리에틸아민 3당량을 사용하여 60°C 내외 또는 환류하에서 6시간에서 48시간 정도 반응시켜서 quinolone 유도체를 얻었다. 이렇게 만들어진 유도체는 Table I에 나타내었다.

**약효의 검색**—합성된 화합물은 Gram 양성균 및



Scheme I



Scheme II

Table I—Synthesis of Quinolone Compounds(7)

No	R <sup>5</sup>	R <sup>8</sup>	n	Yield(%)	mp(°C)		<sup>1</sup> H NMR δ(ppm)
7a	H	H	0	61	230~234	NaOH/D <sub>2</sub> O:	0.60~1.00(4H, m), 1.41~2.50(2H, m), 2.10(3H, s), 2.60~4.21(6H, m), 6.22(1H, d), 7.30(1H, d), 8.09(1H, s).
7b	H	H	1	71	196~198	CDCl <sub>3</sub> :	1.19~1.31(4H, m), 1.50~2.50(3H, m), 2.17(3H, s), 2.67(2H, d), 3.20~4.01(5H, m), 15.29(1H, br).
7c	H	F	0	82	214~218	CDCl <sub>3</sub> :	1.09~1.27(4H, m), 1.93~2.37(2H, nm), 2.20(3H, s), 3.29~3.45(1H, m), 3.71~4.68(5H, m), 7.73(1H, dd), 8.71(1H, s), 14.78(1H, br).
7d	H	F	1	85	166~168	CDCl <sub>3</sub> :	1.10~1.30(4H, m), 1.54~2.42(3H, m), 2.16(3H, s), 2.62(2H, d), 3.34~4.20(5H, m), 6.36(2H, br), 8.54(1H, s), 14.83(1H, br).
7f	H	Cl	1	76	112~116	CDCl <sub>3</sub> :	1.12~1.32(4H, m), 1.52~2.43(3H, m), 2.16(3H, s), 2.61(2H, d), 3.32~4.16(5H, m), 7.84(1H, dd), 8.64(1H, s), 14.38(1H, br).
7g	H	OCH <sub>3</sub>	1	65	185~188	CDCl <sub>3</sub> :	0.94~1.34(4H, m), 1.53~2.53(3H, m), 2.17(3H, s), 2.64(2H, d), 3.58(3H, s), 3.50~4.09(5H, m), 7.76(1H, d), 8.75(1H, s), 15.03(1H, br).

Table II—Antibacterial Activity of New Quinolones(MIC; µg/ml)

No.	Strains	New Quinolones							CPFX
		7a	7b	7c	7d	7e	7f	7g	
1	Streptococcus pyogenes A 308	3,125	— <sup>a</sup>	3,125	0.391	0.195	0.049	0.195	1,563
2	Streptococcus pyogenes A77	1,563	— <sup>a</sup>	3,125	0.195	0.391	0.004	1,563	0.391
3	Streptococcus pyogenes MD 8b	0.781	1,563	0.391	0.195	0.195	0.007	1,563	0.781
4	Staphylococcus aureus SG511	0.025	0.049	0.002	0.002	0.004	.002	0.002	0.098
5	Staphylococcus aureus 285	0.025	0.049	0.002	0.002	0.025	0.002	0.002	0.195
6	Staphylococcus aureus 503	0.025	0.049	0.002	0.002	0.007	0.002	0.004	0.195
7	Escherichia coli 0 55	0.098	0.049	0.049	0.007	0.013	0.049	0.098	0.002
8	Escherichia coli DC 0	6.25	3,125	1,563	1,563	3,125	1,563	3,125	0.049
9	Escherichia coli DC 2	3,125	0.781	0.781	0.195	0.195	0.195	0.391	0.025
10	Escherichia coli TEM	3,125	0.391	0.781	0.025	0.025	0.049	0.195	0.013
11	Escherichia coli 1507E	1,563	1,563	0.781	0.049	0.025	0.098	0.391	0.013
12	Pseudomonas aeruginosa 9027	1,563	3,125	0.781	0.781	3,125	0.195	1,563	0.098
13	Pseudomonas aeruginosa 1592E	1,563	3,125	0.781	1,563	3,125	1,563	6.25	0.098
14	Pseudomonas aeruginosa 1771	0.781	3,125	0.195	0.781	1,563	0.098	3,125	0.098
15	Pseudomonas aeruginosa 1771M	0.391	0.391	0.195	0.013	0.781	0.098	0.391	0.098
16	Salmonella typhimurium	0.391	0.195	0.049	0.098	0.049	0.049	0.195	0.013
17	Klebsiella oxytoca 1082E	0.098	0.049	0.007	0.098	1,563	0.098	0.098	0.098
18	Klebsiella oxytoca 1082E	0.195	0.391	0.195	0.391	3,125	0.391	0.781	0.049
19	Enterobacter cloacae P99	0.195	0.781	0.195	0.049	0.049	0.025	0.391	0.007
20	Enterobacter cloacae 132E	0.098	0.195	0.098	0.025	0.049	0.049	0.391	0.004

a: not detected, CPFX=Ciprofloxacin

Gram 음성균 20종에 대해서 항균 활성을 시험하였다. 이때의 항균시험의 시험방법은 Japanese Chemotherapy Society의 표준방법에 의해서 한천 플레이트 희석법으로 실시하였다.<sup>13)</sup> 최소 발육저지 농도(MIC;  $\mu\text{g/ml}$ )는 대조물질로 사용한 ciprofloxacin과 비교하였다. 그 실험결과는 Table II에 나타내었다.

Table II에 나타난 바와 같이 대조물질인 ciprofloxacin과 비교할 때 Gram 양성균에 대한 항균력은 일부 동등하거나 2배에서 64배 우수한 것으로 나타났고, Gram 음성균에 대한 항균력이 떨어지는 현상을 주고 있다. 화합물 7c, 7d, 7f는 Gram 음성균에 대한 항균력이 ciprofloxacin에 근접되고 Gram 양성균(특히 Staphylococci)에 대한 뛰어난 항균력을 보여줌으로써 새로운 선도물질로 생각되며, Gram 음성균에 대한 항균력을 높이기 위한 연구를 진행할 필요가 있으리라 생각된다.

### 감사의 말씀

이 논문의 연구는 1992년도 과학기술처의 G-7과제 지원으로 이루어졌으며 이에 감사를 드립니다.

### 문헌

- 1) Leshner, G. Y., Froelich, E. J., Gruett, M. D., Bailey, J. H. and Brundage, R. P.: 1-Naphthyridine derivatives. A new class of chemotherapeutic agents. *J. Med. Chem.*, **5**, 1063 (1962).
- 2) Wolfson, J. S. and Hooper, D. C.: Quinolone Antimicrobial Agents: *Am. Soc. Microbiol.*, Washington, DC, pp. 3 (1993).
- 3) Koka, H., Itoh, A., Murayma, S., Suzue, S. and Irikura, T.: Structure activity relationships of antibacterial 6,7-and 7,8-disubstituted 1-alkyl-1,4-dihydro-4-oxo quinoline-3-carboxylic acids. *J. Med. Chem.*, **23**, 1358 (1980).
- 4) Matsumoto, J., Miyamoto, T., Minamida, A., Nishimura, Y. and Egawa, H.: Pyridonecarboxylic acids as antibacterial agents: 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 (1984).

- 5) Wise, R., Andrew, J. and Edward, L.: In vitro activity of Bay 09867, a new quinolone derivative, compared with those of other antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **23**, 559 (1983).
- 6) Sata, K., Matsuura, Y., Inoue, M., Une, T., Osada, Y., Ogawa, H. and Mitsuhashi, S.: *In vitro* and *in vivo* activity of DL-8280, a new oxazine derivative. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **22**, 548 (1982).
- 7) Jaeger, E. and Biel, J. H.: Pyrrolidinediols. 1-Substituted 3-Hydroxy-methyl-4-hydroxypyrrolines and Derivatives. *J. Org. Chem.*, **26**, 1519 (1961).
- 8) Greene, T. W. and Wuts, P. G. M.: Protective Groups in Organic Synthesis: John Wiley & Sons, Inc. (1991).
- 9) Sanchez, J. P., Domagala, J. M., Hagen, S. E., Heifetz, C. L., Hutt, M. P., Nichols, J. B., and Trehan, A. K.: Quinolone Antibacterial Agents. Synthesis and Structure-Activity Relationships of 8-Substituted Quinolone-3-carboxylic Acids and 1,8-Naphthyridine-3-carboxylic Acids. *J. Med. Chem.*, **31**, 983 (1988).
- 10) Domagala, J. M., Heifetz, C. L., Hutt, M. P., Mich, T. F., Nichols, J. B., Solomon, M., and Worth, D. F.: 1-Substituted 7-[3-(Ethylamino)-methyl]-1-pyrrolidinyl[-6,8-difluoro-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic Acids. New Quantitative Structure-Activity Relationships at N1 for the Quinolone Antibacterials. *J. Med. Chem.*, **31**, 991 (1988).
- 11) Domagala, J. M., Bridges, A. J., Culbertson, T. P., Gambino, L., Hagen, S. E., Karrick, G., Porter, K., Sanchez, J. P., Sesnie, J. A., Spense, F. G., Szotek, D. D., and Wemple, J.: Synthesis and Biological Activity of 5-Amino-and 5-Hydroxyquinolones, and the Overwhelming Influence of the Remote N<sub>1</sub>-Substituent in Determining the Structure-Activity Relationship. *J. Med. Chem.*, **34**, 1142 (1991).
- 12) Masuzawa, K., Suzue, S., Hirai, K., and Ishizaki, T.: Eur. Pat 0230295 (1987).
- 13) Japan Society of chemotherapy(日本化学療法学会): 最小發育阻止濃度(MIC)測定法. *Chemotherapy.*, **23**, 1~2 (1975).