

새로운 베타락탐계 항생물질 합성과 항균활성

고옥현* · 홍석순 · 하재천 · 김영수

조선대학교 약학대학

(Received March 17, 1994)

Studies on Synthesis and Antimicrobial Activity of New β -Lactam Antibiotics

Ok-Hyun Ko*, Sun-Soon Hong, Jae-Chun Ha and Young-Soo Kim

Department of Pharmacy, College of Pharmacy, Chosun University

Abstract—For the development new cephalosporin antibiotics with aminothiazolmethoxyimino moiety in the C-7 position and triazolthiomethyl moiety in the C-3 position of cephem ring, 7β -[(z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[5-(aryl or het.)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl]thiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acids were synthesized. These compounds were tested for antimicrobial activity *in vitro* against ten species of microorganisms. It showed remarkable antibacterial activity against *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* ATCC 9341 and *Escherichia coli* ESS. The antibacterial activity of most new compounds showed more active than cefazoline, but these compounds were lower active than cefotaxime against *Pseudomonas aeruginosa* IFO 13130.

Keywords □ 7β -[(z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl]thiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid. 7β -[(z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[5-(2,4-dichlorophenyl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl]thiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid. 7β -[(z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[5-(2-chlorophenyl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl]thiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid. 7β -[(z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[5-(2-thiophenyl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl]thiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid. 7β -[(z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[5-(3-pyridyl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl]thiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid. 7β -[(z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[5-(4-methylphenyl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl]thiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid.

Cephalosporin계 항생제는 세균의 세포벽의 구성 성분인 peptidoglycan을 생합성할 때 필수효소인 transpeptidase의 작용을 저해하여 살균작용을 나타낸다. 근래 cephem ring의 C-7위치와 C-3위치에 여러가지 group을 도입시킴으로서 보다 강력한 항균력을 갖은 cephalosporin계 항생제의 개발에 많은 연구가 진행되고 있다. 특히 C-7위치에 aminothiazolalkoxyiminoacetamido group을 도입시킨 cephalosporin계 항생제¹⁻¹⁰⁾가 β -lactamase에 대한 안정성을 증가시키며, penicillin binding protein(PBP)에 대한 결합친화성을 향상 시킬뿐 아니라 G(-)균의 외막투

과성을 증가시켜 *Pseudomonas aeruginosa*를 비롯한 G(-)균에 항균력이 다른 cephalosporin계 항생제보다 항균력이 뛰어난이 밝혀져 cefixime,¹¹⁾ ceftibuten,¹²⁾ cefdinir,¹³⁾ cefpirome,¹⁴⁻¹⁵⁾ ceftizoxime,¹⁶⁻¹⁸⁾ cefotaxime,¹⁹⁻²⁰⁾ cefmenoxime²¹⁾ 그리고 ceftriaxone²²⁾ 등이 개발되었다. 본 저자는 보다 광범위한 항균스펙트럼을 갖는 새로운 의약품을 합성할 목적으로 cephem ring의 C-7위치에 cefotaxime 구조와 같이 aminothiazolmethoxyimino acetamido group을 고정시키고 항균활성을 증가시키기 위하여 약리활성이 기대되는 5-phenyl-4-(aryl or het.)triazol-1-thiol유도체를 합성하여 C-3위치에 도입시킨 새로운 화합물

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

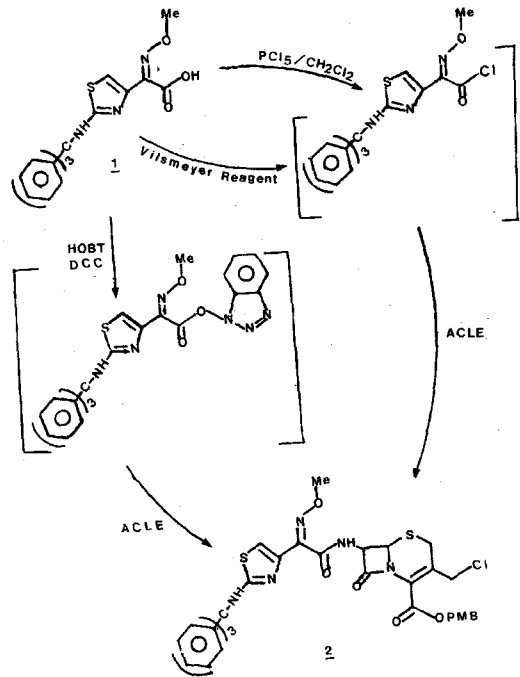
인 7β-[(z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[5-(aryl or het.)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl]thiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid 유도체를 합성하여 *Pseudomonas* 균을 비롯하여 G(-)균과 G(+균 및 fungus에 대하여 항균력이 우수한 cefotaxime과 cefazoline을 대조물질로 사용하여 항균력을 실험하였다.

실 험

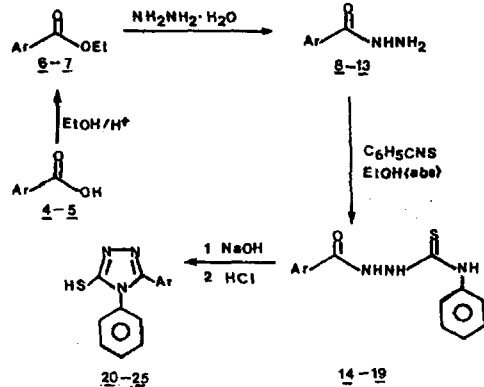
시약 및 기기—본 실험에 사용된 시약들은 Aldrich Co., Tokyo Kasei, Fluka Co.에서 구입한 일급시약을 사용하였으며 p-methoxybenzyl-7-amino-3-chloromethyl-3-cephem-4-carboxylate hydrochloride (ACLE)는 Otsuka사제를 silica gel(230~400 mesh)는 Sigma사제를 사용하였고 용매는 필요에 따라 정제하여 사용하였다.

기기로 Thin Layer Chromatography(TLC)는 Kieselgel F₂₅₄을, 융점측정은 Gallen-Kamp melting point apparatus를 사용하였으며, 이에 대한 보정은 하지 않았다. IR spectra는 Bruker IFS 66을 사용하여 KBr pellet으로 측정하였다. NMR spectra는 tetramethylsilane(TMS)을 내부 표준물질로 하여 Bruker FT-80 MHz를 사용하였다. 원소분석(화합물 20~25)은 Carlo-Erba Auto CHN-SO, EA1108 Element analyzer를 사용하였다.

p-Methoxybenzyl 7β-[(Z)-2-(2-tritylaminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-chloromethyl-3-cephem-4-carboxylate(2) (Vilsmeier Reagent법) DMF 0.39 ml(4.98 mmol), THF 5.2 ml의 혼합용액을 -10~0℃로 교반하면서 POCl₃ 0.45 ml(4.98 mmol)을 가하고 30분간 교반한 후, 이 용액에 (Z)-2-(2-tritylaminothiazol-4-yl)-2-methoxyiminoacetic acid hydrochloride(1) 1.94 g(4.15 mmol)을 가한 다음 0℃에서 30분간 교반하였다. 여기에 p-methoxybenzyl 7-amino-3-chloromethyl-3-cephem-4-carboxylate hydrochloride(ACLE) 1.39 g(3.42 mmol)을 EA 15 ml에 현탁시킨 후 hexamethyldisilazane(HMDS) 2.89 ml(13.8 mmol)을 가한 용액을 30℃에서 가한 다음, -10~0℃에서 1시간 동안 교반하였다. 이 용액에 EA와 H₂O의 혼합 용매 80 ml를 가하고 교반한 다음 유기층을 분리하여 포화중조용



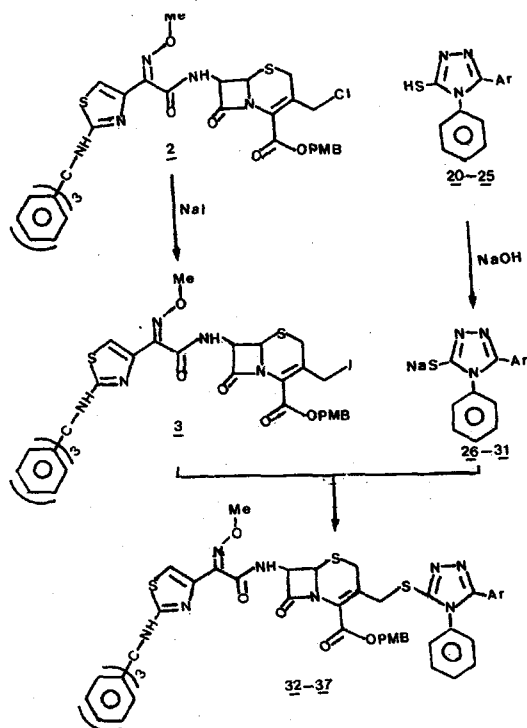
Scheme I—Synthesis of compound 2



Scheme II—Synthesis of compound 20-25

액과 포화식염수로 세척하고 MgSO₄로 건조한다. 이를 감압농축하여 잔사를 silica gel(230~400 mesh)을 사용하여 column chromatography(eluent: toluene/EA=10 : 1)로 정제하여 황색결정 1.85 g(68.1%) 얻었다.

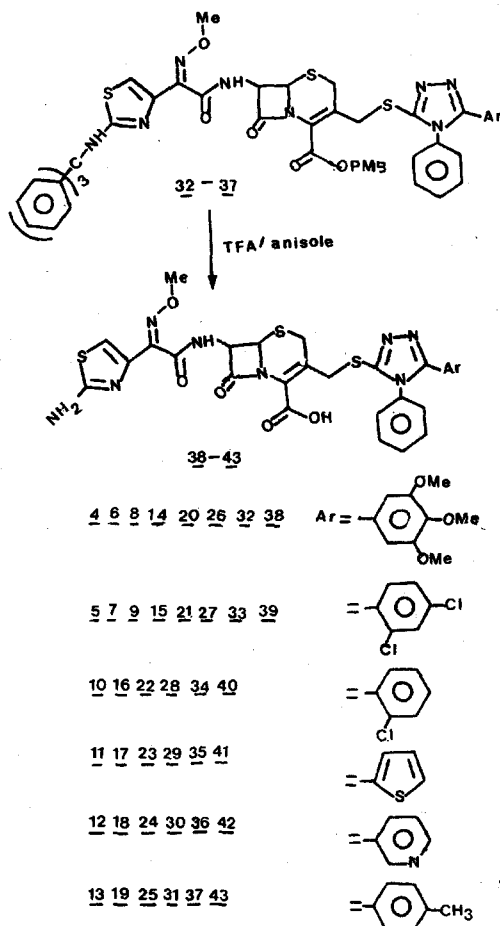
(PCl₅법) 화합물(1) 2 g(4.27 mmol)을 CH₂Cl₂ 8.4 ml에 현탁시킨 다음 0~5℃에서 PCl₅ 0.98 g(4.71 mmol)을 가하고 계속해서 1시간 동안 교반시킨다.



Scheme III—Synthesis of compound 32–37

여기에 ACLE 1.54 g(3.80 mmol)과 HMDs 3.21 ml (15.2 mmol)를 넣은 CH_2Cl_2 16.8 ml의 용액을 -20°C 에서 가하고, $-20\sim-10^\circ\text{C}$ 에서 30분간 교반한 다음 EA와 H_2O 의 혼합용매 100 ml에 가해 5분간 교반한다. 위 반응액의 유기층을 분리하여 포화중조용액과 포화식염수로 세척하고 MgSO_4 로 건조한 다음 이것을 감압 농축하여 잔사를 Vilsmeier reagent법과 같은 방법으로 실험하여 황색 결정 1.82 g(60.3%)을 얻었다.

(HOBT법) DMF 10 ml에 화합물(1) 2 g(4.51 mmol)과 1-hydroxybenzotriazole(HOBT) 0.56 g (4.78 mmole)을 넣은 다음, DCC 0.99 g(4.78 mmol)을 가하고 $20\sim25^\circ\text{C}$ 에서 3시간 동안 반응시켜 생성된 결정을 여과 제거한다. 한편 ACLE 1.55 g(3.83 mmol)에 DMF 7.6 ml와 증류수 4 ml를 가한 다음, $5\sim10^\circ\text{C}$ 에서 NaHCO_3 0.36 g(4.28 mmol)을 넣고 20분간 교반한 후, 이 용액을 앞의 여액에 가한다. 이것을 $30\sim35^\circ\text{C}$ 에서 4시간 동안 반응시킨 후 EA 40 ml와 증류수 200 ml의 혼합액에 넣고 EA층을 취한 후 다시 EA 10 ml를 수층에 가하여 EA층을 분리한다. 분리한



Scheme IV—Synthesis of compound 38–43

EA층을 증류수 100 ml, 0.5N-HCl 수용액 100 ml, 2% Sod.acetate 수용액 100 ml, 증류수 100 ml의 차례로 세척한 후 무수 MgSO_4 로 건조한다. 위 물질을 감압 농축하고 POCl_3 법과 같은 방법으로 하여 황색 결정 1.69 g(56%)을 얻었다. 용점: $121\sim123^\circ\text{C}$ (dec.) (lit.²³, 120°C), IR(KBr, cm^{-1}): 1788, 1723, 1685, $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6), δ : 3.52(2H, d, $\text{C}_2\text{-H}$), 3.75(3H, s, OCH_3), 4.85(3H, s, N-OCH_3), 4.54(2H, d, CH_2Cl), 5.19(1H, d, $\text{C}_6\text{-H}$), 5.25(2H, s, OCH_2), 5.83(1H, dd, $\text{C}_7\text{-H}$), 6.50(1H, s, thiazole-H), 6.84~7.32(19H, m, ArH), 8.81(1H, s, thiazole-NH), 9.65(1H, d, CONH)

p-Methoxybenzyl 7 β -[(Z)-(2-tritylaminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-iodomethyl-3-cephem-4-carboxylate(3)—Acetone 50 ml에 화합물

(2) 1.8 g(2.27 mmol)과 NaI 0.36 g(2.4 mmol)을 가하고 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 이 용액을 감압농축한 후 EA 60 ml에 녹이고 H₂O, 5% Na₂S₂O₃ 용액, 20% 식염수로 세척한 다음 MgSO₄로 건조하고, 감압농축시켜 황색 결정 1.73 g(86.2%)을 얻었다. 융점: 132~133°C(dec.) IR(KBr, cm⁻¹): 1788, 1724, 1684, ¹H-NMR(DMSO-d₆), δ: 3.55(2H, d, C₂-H), 3.79(3H, s, OCH₃), 4.06(3H, s, N-OCH₃), 4.36(2H, d, CH₂), 4.96(1H, d, C₆-H), 5.22(2H, s, OCH₂), 5.83 (1H, dd, C₇-H), 6.71(1H, s, thiazole-H), 6.82~7.29(19H, m, ArH), 8.80(1H, s, thiazole-NH), 9.65(1H, d, CONH)

Ethyl 3,4,5-trimethoxybenzoate(6)—3,4,5-Trimethoxybenzoic acid 5 g(23.6 mmol)을 EtOH 24 ml와 c-H₂SO₄ 0.5 ml에 가해 2시간 동안 반응 시켰다. 반응물을 냉각하면서 0.1N-NaOH으로 pH 7로 중화한 후, 감압농축하여 용매를 제거하였다. 여기에 H₂O 10 ml를 가한 후 EA 200 ml로 2회 추출하여 H₂O로 세척하고 MgSO₄로 건조한 다음, 용매를 감압농축하여 생성된 결정을 여과하고, 95% EtOH로 재결정하여 무색 결정 4.80 g(85%)을 얻었다. 융점: 58~59°C IR(KBr, cm⁻¹): 1709, ¹H-NMR(DMSO-d₆), δ: 1.39(3H, t, CH₂CH₃), 3.92(3H, s, OCH₃), 3.90(6H, s, OCH₃), 4.37(2H, q, CH₂CH₃), 7.30(2H, s, ArH)

Ethyl 2,4-dichlorobenzoate(7)—2,4-Dichlorobenzoic acid 15 g(77 mmol), H₂SO₄ 1.54 ml, EtOH 80 ml를 화합물(6)과 같은 방법으로 합성하여 생성된 유상물을 H₂O 20 ml, EA 500 ml로 2회 추출하고 EA 층을 취하여 MgSO₄로 건조한 후 감압농축하였다. 생성된 유상물질을 진공건조하여 syrup상의 물질 1.55 g(90%)을 얻었다. IR(KBr, cm⁻¹): 1653, ¹H-NMR(DMSO-d₆), δ: 1.25(3H, t, CH₂CH₃), 4.27(2H, q, CH₂CH₃), 7.5~7.85(3H, m, ArH)

3,4,5-Trimethoxybenzoic hydrazide(8)—화합물(6) 4 g(16.7 mmol), NH₂NH₂·H₂O 1.7 g(34 mmol), EtOH 30 ml를 8시간 동안 가열교반한 후, 감압 농축하여 용매를 제거하고 잔사를 빙수 100 ml에 저으면서 가하였다. 생성된 결정을 여과하여 빙수로 씻고 EtOH로 재결정하여 무색 결정 3.05 g(80.7%)을 얻었다. 융점: 155~156°C, IR(KBr, cm⁻¹): 1660, 3198, 3333 ¹H-NMR(DMSO-d₆), δ: 3.71(3H, s, OCH₃), 3.82(6H, s, OCH₃), 4.54(2H, brs, NHNH₂) 7.17(2H,

s, ArH), 9.69(1H, s, CONH)

2,4-Dichlorobenzoic hydrazide(9)—화합물(7) 10 g(47 mmol), NH₂NH₂·H₂O 4.22 g(84.3 mmol), EtOH 20 ml를 화합물(8)와 같은 방법으로 합성하여 무색 결정 8.2 g(84.8%)를 얻었다. 융점: 172~173°C, IR(KBr, cm⁻¹): 3165, 1673, ¹H-NMR(DMSO-d₆), δ: 4.51(2H, brs, NHNH₂), 7.44~7.67(3H, m, ArH), 9.60(1H, brs, CONH)

1-(3,4,5-Trimethoxybenzoyl)-4-phenyl-3-thiosemicarbazide(14)—화합물(8) 3 g(13.26 mmol), phenylisothiocyanate 1.79 g(13.26 mmol) EtOH 18 ml를 5시간 동안 환류시켰다. 과량의 EtOH을 감압농축하여 생성된 결정을 여과하고, 95% EtOH로 재결정하여 무색 결정 3.93 g(82%)을 얻었다. 융점: 206~207°C, IR(KBr, cm⁻¹): 995, 1628, 1663, 3167, 3279, 3321, ¹H-NMR(DMSO-d₆), δ: 3.73(3H, s, OCH₃), 3.85(6H, s, OCH₃), 7.23~7.55(7H, m, ArH), 9.79(1H, brs, CONH), 10.40(2H, s, NH-CS-NH)

1-(2,4-Dichlorobenzoyl)-4-phenyl-3-thiosemicarbazide(15)—화합물(9) 3 g(15 mmol), phenylisothiocyanate 2 g(15 mmol), EtOH 20 ml를 4시간 동안 가열 반응시킨 다음, EtOH을 감압농축하고 생성된 결정을 여과하여 무색 결정 4.02 g(78%)을 얻었다. 융점: 97°C, IR(KBr) cm⁻¹: 1053, 1109, ¹H-NMR(DMSO-d₆), δ: 7.25~7.79(8H, m, ArH), 9.68(1H, d, CONH), 10.45(2H, brs, NH-CS-NH)

1-(2-Chlorobenzoyl)-4-phenyl-3-thiosemicarbazide(16)—2-Chlorobenzoic hydrazide(10) 5 g(29 mmol), phenylisothiocyanate 3.92 g(29 mmol) 및 EtOH 36.5 ml를 화합물(14)와 같은 방법으로 합성하여 무색 결정 7.03 g(78.46%)을 얻었다. 융점: 157~160°C, IR(KBr) cm⁻¹: 3160, 1675, 1100, ¹H-NMR(DMSO-d₆), δ: 7.24~7.09(9H, m, ArH), 9.64(1H, s, CONH), 10.5(2H, brs, NH-CS-NH)

1-(2-Thiophenecarbonyl)-4-phenyl-3-thiosemicarbazide(17)—2-Thiophenecarboxylic hydrazide(11) 14.7 g(0.1 mol), phenylisothiocyanate 13.7 g(0.1 mol), EtOH 125 ml를 화합물(14)와 같은 방법으로 합성하여 무색 결정 24.7 g(87.9%)을 얻었다. 융점: 193~196°C, IR(KBr) cm⁻¹: 1675, 1108, 3345. ¹H-NMR(DMSO-d₆), δ: 6.69~6.76(1H, m, thienyl-βH), 6.92~7.04(2H, m, thienyl-αH), 7.45~7.86(5H, m, ArH),

9.67(1H, d, CONH), 10.43(2H, brs, NH-CS-NH)

1-(3-Nicotinoyl)-4-phenyl-3-thiosemicarbazide (18)—Nicotinic hydrazide(12) 8.6 g(50 mmol), phenylisothiocyanate 6.76 g(50 mmol), EtOH 63 ml을 화합물(14)와 같은 방법으로 합성하여 무색 결정 12.8 g(91.5%)을 얻었다. 융점: 194~200°C, IR(KBr) cm^{-1} : 1652, 1100, $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-}d_6)$, δ : 7.23~9.20(9H, m, ArH, nicotinoyl-H), 9.72(1H, d, CONH), 10.48(2H, brs, NH-CS-NH)

1-(4-Methylbenzoyl)-4-phenyl-3-thiosemicarbazide (19)—p-Toluic hydrazide(13) 5 g(33 mmol), phenylisothiocyanate 4.51 g(33 mmol) 및 EtOH 50 ml를 화합물(15)와 같은 방법으로 합성하여 무색 결정 8.4 g(88%)을 얻었다. 융점: 182°C, IR(KBr) cm^{-1} : 1631, 1100, $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-}d_6)$, δ : 2.37(3H, s, CH_3), 7.12~7.86(9H, m, ArH), 9.71(1H, d, CONH), 10.43(2H, brs, NH-CS-NH)

4-Phenyl-5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-4H-1,2,4-triazol-3-thiol(20)—화합물(14) 3 g(8.3 mmol)을 2N-NaOH 90 ml에 가하고 3시간 동안 가열반응시킨 다음 냉각하고 c-HCl로 pH 2로 산성화한다. 생성된 결정을 여과하고 냉수로 세척하여 2.7 g(95%)의 무색 결정을 얻었다. 융점: 211~212°C, $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-}d_6)$, δ : 3.54(6H, s, OCH_3), 3.65(3H, s, OCH_3), 6.59(2H, s, ArH), 7.39~7.50(5H, m, ArH)

Anal., for $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$

Calcd.(%) C: 59.45 H:4.99 N:12.23

Found (%) C: 58.87 H:4.66 N:12.06

4-Phenyl-3-(2,4-dichlorophenyl)-4H-1,2,4-triazol-3-thiol(21)—화합물(15) 9.5 g(28 mmol), 2N-NaOH 100 ml를 화합물(20)와 같은 방법으로 합성하여 무색 결정 8.8 g(97%)을 얻었다. 융점: 240°C, $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-}d_6)$, δ : 7.24~7.78(8H, m, ArH)

Anal., for $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{N}_3\text{Cl}_2\text{S}$

Calcd.(%) C: 39.91 H: 2.57 N: 9.97

Found (%) C: 40.12 H: 2.52 N: 10.02

4-Phenyl-3-(2-chlorophenyl)-4H-1,2,4-triazol-3-thiol(22)—화합물(16) 9.5 g(28 mmol), 2N-NaOH 100 ml를 화합물(20)와 같은 방법으로 합성하여 무색 결정 8.8 g(97%)을 얻었다. 융점: 223~224°C, $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-}d_6)$: 7.26~7.65(9H, m, ArH)

Anal., for $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{N}_3\text{Cl}_2\text{S}$

Calcd.(%) C: 66.64 H: 3.99 N: 16.65

Found (%) C: 67.23 H: 4.10 N: 16.47

4-Phenyl-5-(2-thiophenyl)-4H-1,2,4-triazol-3-thiol(23)—화합물(17) 20 g(72 mmol), 2N-NaOH 200 ml을 화합물(20)와 같은 방법으로 합성하여 무색 결정 15 g(81%)을 얻었다. 융점: 264~267°C, $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-}d_6)$ δ : 6.71~6.77(1H, m, thienyl- β H), 6.90~7.07(2H, m, thienyl- α H), 7.50~7.78(5H, m, ArH) Anal., for $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{N}_3\text{S}_2$

Calcd.(%) C: 51.03 H: 3.85 N: 27.25

Found (%) C: 51.38 H: 3.45 N: 26.97

4-Phenyl-5-(3-pyridyl)-4H-1,2,4-triazol-3-thiol (24)—화합물(18) 21.8 g(80.0 mmol), 2N-NaOH 800 ml을 화합물(20)와 같은 방법으로 합성하여 무색 결정 19.2 g(94%)을 얻었다. 융점: 290.4°C, $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-}d_6)$, δ : 7.24~7.55(5H, m, ArH), 7.45~9.12(4H, m, pyridyl-H)

Anal., for $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{S}_2$

Calcd.(%) C: 57.33 H: 3.70 N: 15.43

Found (%) C: 57.02 H: 3.70 N: 15.21

4-Phenyl-5-(4-methylphenyl)-4H-1,2,4-triazol-3-thiol(25)—화합물(19) 3 g(10 mmol), 2N-NaOH 100 ml를 화합물(20)와 같은 방법으로 합성하여 무색 결정 2.8 g(98%)을 얻었다. 융점: 269~270°C, $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-}d_6)$, δ : 2.26(3H, s, CH_3), 7.16(4H, s, ArH), 7.24~7.55 (5H, m, ArH), 14.02(1H, brs, SH)

Anal. for $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{S}$

Calcd.(%) C: 67.39 H: 4.90 N: 15.72

Found (%) C: 67.12 H: 5.04 N: 15.37

Sodium 5-(substituted)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-thiolate(26~31)—General process: 6.0 mmol에 해당하는 화합물 (20), (21), (22), (23), (24), (25)을 각각 NaOH 0.24 g(6.0 mmol)을 증류수 4 ml에 용해시킨 용액에 가하여 80~90°C에서 20분간 교반한 다음 불용물을 제거하고 여액을 감압농축한 후 P_2O_5 로 24시간 동안 건조하여 이것을 정제하지 않고 다음 반응에 직접 사용하였다.

p-Methoxybenzyl 7 β -[(z)-2-(2-tritylaminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl]thiomethyl-3-cephem-4-carboxylate(32)—DMSO 8 ml에 화합물(3) 1 g(1.13 mmol)을 용해시킨 후, 화합

물(26) 0.45 g(1.23 mmol)을 가한다. 이 용액을 실온에서 3시간 동안 반응시키고 증류수에 분산 여과하여 연갈색 분말 1.03 g을 얻었다. 이것을 silica gel(230~400 mesh)을 사용하여 column chromatography (eluent : toluene/EA=4 : 1)로 정제하여 미황색 결정 0.75 g(60.29%)을 얻었다. 융점: 154~155°C IR(KBr) cm^{-1} : 1782, 1680 $^1\text{H-NMR(DMSO-d}_6\text{)}$, δ : 3.52(6H, s, OCH_3), 3.64(3H, s, OCH_3), 3.72(3H, s, OCH_3), 3.79(3H, s, N- OCH_3), 4.06(2H, s, CH_2S), 5.07~5.14(3H, m, $\text{C}_6\text{-H}$, OCH_2), 6.63(2H, s, *ArH*), 7.20~7.62(24H, m, *ArH*), 8.76(1H, s, thiazole-H), 9.55(1H, d, CONH)

p-Methoxybenzyl 7 β -[(z)-2-(2-tritylaminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[5-(2,4-dichlorophenyl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl]thiomethyl-3-cephem-4-carboxylate(33)—DMSO 10 ml에 화합물(3) 1.5 g(1.69 mmol)을 용해시킨 후 화합물(27) 0.6 g(1.74 mmol)을 화합물(32)와 같은 방법으로 합성하여 갈색 분말 1.48 g을 얻었다. 이것을 silica gel(230~400 mesh)을 사용하여 column chromatography(eluent : toluene/EA=2 : 1)로 정제하여 미황색 결정 0.81 g(44.33%)을 얻었다. 융점: 158~159°C, IR(KBr) cm^{-1} : 1783, 1596, $^1\text{H-NMR(DMSO-d}_6\text{)}$ δ : 3.65(2H, d, $\text{C}_2\text{-H}$), 3.73(3H, s, OCH_3), 3.79(3H, s, N- OCH_3), 4.08(2H, s, CH_2), 5.05~5.16(3H, m, $\text{C}_6\text{-H}$, OCH_2), 6.66~7.70(28H, m, *ArH*, thiazole-H), 8.71(1H, s, thiazole-NH), 9.52(1H, d, CONH)

p-Methoxybenzyl 7 β -[(z)-2-(2-tritylaminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[5-(2-chlorophenyl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl]thiomethyl-3-cephem-4-carboxylate(34)—DMSO 10 ml에 화합물(3) 1.20 g(1.35 mmol), 화합물(28) 0.43 g(1.38 mmol)을 화합물(32)와 같은 방법으로 합성하여 황갈색 분말 1.32 g을 얻었다. 이것을 silica gel(230~400 mesh)을 사용하여 column chromatography (eluent : toluene/EA=3 : 1)로 정제하여 미황색 결정 0.68 g(48.12%)을 얻었다. 융점: 137~139°C, IR(KBr) cm^{-1} : 1782, 1610, $^1\text{H-NMR(DMSO-d}_6\text{)}$, δ : 3.65(2H, d, $\text{C}_2\text{-H}$), 3.73(3H, s, OCH_3), 3.79(3H, s, N- OCH_3), 4.08(2H, s, CH_2), 5.05~5.16(3H, m, $\text{C}_6\text{-H}$, OCH_2), 6.66~7.70(29H, m, *ArH*, thiazole-H), 8.71(1H, s, thiazole-NH), 9.52(1H, d, CONH)

p-Methoxybenzyl 7 β -[(z)-2-(2-tritylaminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[5-(2-thiophenyl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl]thiomethyl-3-cephem-4-carboxylate(35)—DMSO 10 ml에 화합물(3) 1.60 g(1.80 mmol), 화합물(29) 0.52 g(1.85 mmol)을 화합물(32)와 같은 방법으로 합성하여 연갈색 분말 1.85 g을 얻었다. 이것을 silica gel(230~400 mesh)을 사용하여 column chromatography(eluent : toluene/EA=4 : 1)로 정제하여 미황색 결정 0.92 g(50.25%)을 얻었다. 융점: 130~132°C, IR(KBr) cm^{-1} : 1778, 1614, $^1\text{H-NMR(DMSO-d}_6\text{)}$, δ : 3.73(3H, s, OCH_3), 3.79(3H, s, N- OCH_3), 4.02(2H, s, CH_2S), 5.07~5.13(3H, m, $\text{C}_6\text{-H}$, OCH_2), 6.70~7.07(4H, m, thiazole-H, thienyl-H), 7.24~7.67(24H, m, *ArH*), 8.74(1H, s, thiazole-NH), 9.55(1H, d, CONH)

p-Methoxybenzyl 7 β -[(z)-2-(tritylaminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[5-(3-pyridyl)-4H-4-phenyl-1,2,4-triazol-3-yl]thiomethyl-3-cephem-4-carboxylate(36)—DMSO 8 ml에 화합물(3) 1.2 g(1.35 mmol), 화합물(24) 0.38 g(1.38 mmol)을 화합물(32)와 같은 방법으로 합성하여 갈색 분말 1.12 g을 얻었다. 이것을 silica gel(230~400 mesh)을 사용하여 column chromatography(eluent : toluene/EA=3 : 1)로 정제하여 미황색 결정 0.73 g(53.44%)을 얻었다. 융점: 165~168°C, IR(KBr) cm^{-1} : 1783, 1614, $^1\text{H-NMR(DMSO-d}_6\text{)}$ δ : 3.73(3H, s, OCH_3), 3.80(3H, s, N- OCH_3), 4.09(2H, d, CH_2S), 5.08~5.16(3H, m, $\text{C}_6\text{-H}$, OCH_2), 6.71~7.76(27H, m, *ArH*, thiazole-H, pyridyl-H), 8.55(2H, s, pyridyl-H), 8.74(1H, s, thiazole-NH), 9.55(1H, d, CONH)

p-Methoxybenzyl 7 β -[(z)-2-(2-tritylaminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[5-(4-methylphenyl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl]thiomethyl-3-cephem-4-carboxylate(37)—DMSO 8 ml에 화합물(3) 1 g(1.13 mmol), 화합물(31) 0.34 g(1.17 mmol)을 화합물(32)와 같은 방법으로 합성하여 갈색 분말 1.15 g을 얻었다. 이것을 silica gel(230~400 mesh)을 사용하여 column chromatography(eluent : toluene/EA=3 : 1)로 정제하여 미황색 결정 0.47 g(40.55%)을 얻었다. 융점: 143~144°C, IR(KBr) cm^{-1} : 1786, 1615, $^1\text{H-NMR(DMSO-d}_6\text{)}$, δ : 2.27(3H, s, CH_3), 3.73(3H, s, OCH_3), 3.79(3H, s, N- OCH_3), 4.04(2H, s, CH_2S),

5.06~5.13(3H, m, C₆-H, OCH₃), 6.73(1H, s, thiazole-H), 6.93~7.73(28H, m, ArH), 8.75(1H, brs, thiazole-NH), 9.55(1H, d, CONH)

7β-[(Z)-2-(2-Aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl]thiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid(38) - 화합물(32) 1 g(0.91 mmol)에 CH₂Cl₂ 2 ml와 TFA 3 ml 및 anisole 1 ml를 가하여 용해시킨 후, 2시간 동안 0°C에서 교반하고 IPE 50 ml에 분산 여과한 다음 감압건조하여 황색결정을 얻었다. 이 결정을 증류수 15 ml에 현탁시키고 NaHCO₃ 수용액을 가해 용액의 pH를 6.7~6.8로 맞춘 후 여과하여 불용물을 제거한다. 이 여액을 10% 염산 수용액을 사용하여 pH를 3.6~4.0으로 산성화시키면 결정이 생성된다. 이를 여과하고 증류수로 세척한 다음 감압건조하여 미황색의 분말 0.21 g(31.2%)를 얻었다. 융점: 103~103.5°C(dec.), IR(KBr) cm⁻¹: 1764, 1597, ¹H-NMR(DMSO-d₆) δ: 3.64(9H, s, OCH₃), 3.84(3H, s, OCH₃), 4.27(2H, s, CH₂), 5.01(1H, d, C₆-H), 5.65(1H, dd, C₇-H), 6.65(2H, s, ArH), 6.73(1H, s, thiazole-H), 7.21(2H, brs, thiazole-NH₂), 7.54(5H, m, ArH), 9.55(1H, d, CONH)

7β-[(Z)-2-(2-Aminothiazole-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[5-(2,4-dichlorophenyl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl]thiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid(39) - 화합물(33) 2 g(1.85 mmol), CH₂Cl₂ 5 ml를 화합물(38)와 같은 방법으로 합성하여 미황색의 결정 0.22 g(16.5%)를 얻었다. 융점: 101.5~102.5°C(dec.) IR(KBr) cm⁻¹: 1762, 1617, ¹H-NMR(DMSO-d₆)δ: 3.68(2H, d, C₂-H), 3.83(3H, s, N-OCH₃), 4.28(2H, s, CH₂S), 5.14(1H, d, C₆-H), 6.73(1H, s, thiazole-H), 7.15~7.66(10H, m, thiazole-NH₂, ArH), 9.51(1H, d, CONH)

7β-[(Z)-2-(2-Aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[5-(2-chlorophenyl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl]thiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid(40) - 화합물(34) 1.3 g(1.24 mmol), CH₂Cl₂ 3 ml, TFA 5 ml 및 anisole 1.0 ml를 화합물(38)와 같은 방법으로 합성하여 미황색의 결정 0.38 g(44.8%)를 얻었다. 융점: 98.5~99.5°C(dec.), IR(KBr) cm⁻¹: 1760, 1605, ¹H-NMR(DMSO-d₆) δ: 3.83(3H, s, N-OCH₃), 4.21(2H, s, CH₂S), 4.98(1H, d, C₆-H),

6.66~7.03(4H, m, thiazole-H, thienyl-H), 7.18(2H, brs, thiazole-NH₂), 7.28~7.63(5H, m, ArH), 9.47(1H, d, CONH)

7β-[(Z)-2-(2-Aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[5-(3-pyridyl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl]thiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid(42) - 화합물(36) 1.5 g(1.48 mmol), CH₂Cl₂ 3 ml, TFA 4 ml 및 anisole 1.2 ml를 화합물(29)와 같은 방법으로 합성하여 미황색의 분말 0.32 g(33.3%)를 얻었다. 융점: 126~129°C(dec.), IR(KBr) cm⁻¹: 1765, 1614, ¹H-NMR(DMSO-d₆) δ: 3.82(3H, s, N-OCH₃), 4.31(2H, d, CH₂S), 5.08(1H, d, C₆-H), 5.79(1H, dd, C₇-H), 6.76(1H, s, thiazole-H), 7.09~7.72(9H, m, thiazole-NH₂, pyridyl-H, ArH), 8.86(2H, s, nicotiny-H), 9.68(1H, d, CONH)

7β-[(Z)-2-(2-Aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[5-(4-methylphenyl)-4-phenyl-4H-1,2,3,4-triazol-3-yl]thiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid(43) - 화합물(37) 2 g(1.94 mmol)에 CH₂Cl₂ 5 ml, TFA 5 ml 및 anisole 1.5 ml를 0°C에서 가한 후, 상온에서 100분 동안 교반한 다음 화합물(38)와 같은 방법으로 합성하여 미황색 결정 0.16 g(12.4%)를 얻었다. 융점: 137~140°C(dec.), IR(KBr) cm⁻¹: 1762, 1621, ¹H-NMR(DMSO-d₆) δ: 2.26(3H, s, CH₃), 3.83(3H, s, N-OCH₃), 4.26(2H, d, CH₂S), 5.00(1H, d, C₆-H), 5.62(1H, dd, C₇-H), 6.73(1H, s, thiazole-H), 7.05~7.60(11H, m, thiazole-NH₂, ArH), 9.53(1H, d, CONH)

항균력 실험

시험균주

Bacillus subtilis ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Mycobacterium phlei* IFO 3158, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Escherichia coli* KCTC 1039, *Escherichia coli* ESS, *Klebsiella pneumoniae* KCTC 1560, *Pseudomonas aeruginosa* IFO 13130, *Salmonella typhimurium* IFO 3153, *Candida albicans* ATCC 10231 위와 같이 Gram 양성균 4종, Gram 음성균 5종, 진균 1종을 시험균주로 사용하였다.

배지

Table I—MICs($\mu\text{g/ml}$) of synthetic compounds and commercial antibiotics against representative microorganisms

Strains	Compounds	38	39	40	41	42	43	S-1	S-2
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633		0.31	2.5	0.31	0.31	2.5	0.63	0.63	0.31
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923		5	20	2.5	2.5	20	2.5	5	5
<i>Mycobacterium Phlei</i> IFO 3158		5	10	2.58	2.5	10	2.5	1.25	10
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341		0.08	0.16	0.08	0.08	0.16	0.08	0.08	0.08
<i>Escherichia coli</i> KCTC 1039		0.63	0.16	0.31	0.16	0.31	0.31	0.08	2.5
<i>Escherichia coli</i> ESS		0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.63
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KCTC 1560		10	20	2.5	5	10	2.5	0.08	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 13130		>40	>40	>40	40	>40	>40	20	>40
<i>Salmonella typhimurium</i> IFO 3153		5	0.08	2.5	2.5	0.63	1.25	0.08	20
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231		>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40

S-1: Cefotaxime S-2: Cefazoline

시험균주의 전배양 및 검정 plate의 제조목적으로 Muller Hinton broth(DIF Co.)을 사용하였다.

항균활성 측정법

시험균의 전배양—*Candida albicans*를 제외한 9개의 균은 액체배지에서 37°C, 24시간 진탕배양하였으며 진균인 *C. albicans*는 30°C, 48시간 진탕배양하여 사용하였다.

검정 plate의 제조—화합물 38,39,40,41,42,43을 소량의 DMSO에 각각 녹인 후 증류수를 가하여 최종 DMSO의 농도가 2%(v/v)가 되도록 하였다. 각각의 시료 1ml를 2단계 희석법으로 10차례 희석하여 영양한천배지 14ml와 섞었을 때, 최종배지의 화합물 38,39,40,41,42,43 및 대조물질(Cefotaxime, Cefazoline)의 농도가 각각 40,20,10,5,2.5,1.25,0.63,0.31,0.16, 0.08 $\mu\text{g/ml}$ 이 되도록 제조하였다. 이때 대조용 배지로 합성한 화합물과 대조물질이 들어있지 않은 2%(v/v) DMSO용액을 영양한천배지 14ml와 섞어 제조하였다.

항균력 판정—각각의 시험 균주들을 검정 plate에 접종한 것을 37±2°C에서 18시간 배양 후 2배씩 단계적으로 희석하여 접종한 plate를 일렬로 나열하여 육안으로 관찰하여 성장이 억제된 항균제의 최소 발육저지 농도(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)를 정하였다.

항균력 시험결과

합성한 물질들을 Cefotaxime과 Cefazoline을 대조 물질로 하여 항균력을 시험하였던 바 다음 Table I과

같은 결과를 얻었다.

문 헌

- 1) Bucourt, R., Heymes, R., Lutz, A., Penasse, L. and Perronnet, J.: Cephalosporins a chanyes amino-2-thiazolyl-4-acetyles. *Tetrahedron*, **34**, 2233 (1978).
- 2) Kawabata, K., Yamanaku, H., Takasugi, H. and Takaya, T.: Studies on β -lactam antibiotics XIII. Synthesis and structure activity relationships of 7 β -[(Z)-2-aryl-2-carboxymethoxyiminoacetamido]-3-vinylcephalosporins. *J. Antibiotics*, **39**(3), 404 (1986).
- 3) Arimoto, M., Hayano, T., Yoshioka, T., Tagawa, H. and Furkawa, M.: Semisynthetic β -lactam antibiotics III. Synthesis and antibacterial activity of 7 β -[2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(substituted carbamoylmethoxyimino)acetamido]cephalosporins. *J. Antibiotics*, **39**(9), 1243 (1986).
- 4) Kamachi, H., Okita, T., Okuyama, S., Hoshi, H. and Naito, T.: Improved synthesis of ester-type produg. 1-Acetoxyethyl 7 β -[(z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-hydroxyiminoacetamido]-3-[(z)-1-propenyl]-3-cephem-4-carboxylate(BMY-28271). *J. Antibiotics*, **43**(12), 1564 (1990).
- 5) Koyama, K., Saito, S. and Kojima, K.: Synthesis and antibacterial activities of new 3-phenoxyethylcephalosprins. *J. Antibiotics*, **45**(4), 535 (1992).
- 6) Yokoo, C., Onodera, A., Fukushima, H., Numata, K. and Nagate, T.: Studies on cephalosporin antibio-

- tics V. Synthesis, antibacterial activity and oral absorption of new 3-[(z)-methoxycarboxylvinylthio]-7 β -[(z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(oxyimino)acetamido]cephalosporins. *J. Antibiotics*, **45**(9), 932 (1992).
- 7) Yokoo, C., Onodera, A., Fukushima, H., Numata, K. and Nagate, T.: Studies on cephalosporin antibiotics VI. Synthesis, antibacterial activity and oral efficacy in mice of new 7 β -[(z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(hydroxyimino)acetamido]-3-(substituted alkylthio)cephalosporins. *J. Antibiotics*, **45**(9), 1533 (1992).
- 8) Kume, M., Kubota, T., Kimura, Y., Nakashimizu, H., Motokawa, K. and Nakano, M.: Oral active cephalosporins II. Synthesis and structure-activity relationships of new 7 β -[(z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(hydroxyimino)-acetamido]cephalosporins with 1, 2,3-triazole in C-3 side chain. *J. Antibiotics*, **46**(1), 177 (1993).
- 9) Kume, M., Kubota, T., Kimura, Y., Nakashimizu, H., Motokawa, K. and Nakano, M.: Oral active cephalosporins III. Synthesis and structure-activity relationships of new 3-heterocyclithiomethylthio-7-[(z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(hydroxyimino)acetamido]-3-cephem-4-carboxylic acids. *J. Antibiotics*, **46**(2), 316 (1993).
- 10) Ohiki, H., Kawabata, K., Okuda, S., Kamimura, T. and Sakane, K.: A new parenteral cephalosporin with a broad antibacterial spectrum. Synthesis and antibacterial activity. *J. Antibiotics*, **46**(2), 359 (1993).
- 11) Yamanaka, H., Chiba, T., Kawabata, K., Takasugi, H., Masugi, T. and Takaya, T.: Studies of β -lactam antibiotics IX. Synthesis and biological activity of a new orally active cephalosporin, cefixime(FK027). *J. Antibiotics*, **38**, 1738 (1985).
- 12) Hamashima, Y., Kubota, T., Minami, K., Ishikura, K., Konoike, T., Yoshioka, M., Yoshida, T., Nakashimizu, H. and Motokawa, K.: Synthesis and biological properties of 7 β -[(z)-2-(2-amino-4-thiazolyl)-4-carboxy-2-butenoylamino]-3-cephem-4-carboxylic acid(7432-s). *J. Antibiotics*, **40**, 1468 (1987).
- 13) Inamoto, Y., Chiba, T., Kamimura, T. and Takaya, T.: FK482, A new orally active cephalosporin. Synthesis and biological properties. *J. Antibiotics*, **41**, 828 (1988).
- 14) Lattrell, R., Blumbach, J., Deurckheimer, W., Fehlhauer, H. W., Fleischman, K., Kirrstetter, R., Mencke, B., Scheunemann, K-H, Schriener, E., Schwab, W., Seeger, K., Seibert, G. and Wieduwilt, M.: Synthesis and structure activity relationships in the cefpirome series I. 7-[2-(2-Aminothiazol-4-yl)-2-(z)-oxyiminoacetamido]-3-[(substituted-1-pyridino)methyl]ceph-3-em-4-carboxylate. *J. Antibiotics*, **41**, 1374 (1988).
- 15) Prous, J. R.: Cefpirome. *Drugs future* **13**, 369-371 (1988).
- 16) Takava, T., Kamimura, T., Kojo, H., Mine, Y., Nishida, S., Goto, S. and Kuwahara, S.: Ceftizoxime (FK749), a new parenteral cephalosporin: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities. Current chemotherapy and infectious disease, Vol. 1, pp. 255. The American Society of Microbiology, Washington, DC, 1980.
- 17) Takaya, T., Takasugi, H., Masugi, T., Chiba, T., Kochi, H., Takano, T. and Nakano, H.: Structure-activity relationships of sodium 7 β -[(z)-2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-cephem-4-carboxylate(ceftizoxime) and its related compounds. *Nippon Kagaku Kaishi* 785 (1981).
- 18) Takaya, T., Takasugi, H., Masugi, T., Kochi, H., and Nakano, H.: Studies on β -lactam antibiotics, IV. Structure-activity relationships of 7 β -[(z)-2-alkoxyimino-2-(2-amino-4-thiazolyl)acetamido]-3-cephem-4-carboxylic acids. *J. Antibiotics*, **46**(2), 359 (1993).
- 19) Bucourt, R., Heymes, R., Lutz, A., Penasse, L. and Perronnet, J.: Propriété's antibiotiques inattendues dans le domaine des céphalosporins. *C.R.Acad. Sci. Paris, Se'rie D*, 284: 1847-1849 (1977).
- 20) Heymes, R., Lutz, A. and Schriener, E.: Experimental evaluation of HR756, a new cephalosporin derivative: Pre-clinical study. *Infection* **5**, 259 (1977).
- 21) Ochiani, M., Aki, O., Morimoto, A., Okada, T. and Matsushita, Y.: New cephalosporin derivatives with high antibacterial activities. *Chem. Pharm. Bull.* **25**, 3115 (1977).
- 22) Reiner, R., Welss, U., Brombacher, U., Lanz, P., Montavon, M., Furlnmeier, A., Angehrn, P. and

- Probst, P. J.: Ro 13-9904/001, a novel potent and long-acting parenteral cephalosporin. *J. Antibiotics*, **33**, 783 (1980).
- 23) Song, T. H. and Kim, Y. H.: Studies on the synthesis and antibacterial activity of new β -lactam antibiotics. *J. Kor. Chem. Soc.*, **36**(2), 293 (1992).