

6-엑소메틸렌 펜남 유도체의 합성

임채욱* · 박희석 · 이현수 · 임철부

중앙대학교 약학대학 의약화학 교실

(Received March 24, 2000)

Synthesis of 6-Exomethylene Penam Derivatives

Chaeuk Im[#], Hee Suk Park, Hyun Soo Lee and Chul Bu Yim

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

Abstract — The synthesis of new 6-exomethylene penams with triazole ring was described. The 6,6-dibromopenam **5** was treated with CH_3MgBr and carbaldehyde **4** to afford the 6-bromo-6-(1-hydroxy-1-methyl)penicillanate **6**, which was reacted with acetic anhydride to give acetoxy compound **7**. The deacetylation of **7** with zinc and acetic acid gave 6-exomethylenepenams, *Z*-isomer **8** and *E*-isomer **9**, which were oxidized to sulfones **10** and **11** by *m*-CPBA. The *p*-methoxybenzyl compounds **6**~**11** were deprotected by AlCl_3 and neutralized to give the sodium salts **12**~**17**.

Keywords □ Triazole, 6-Exomethylenepenam, β -Lactamase inhibitors.

임상에서 널리 사용되고 있는 β -lactam 항생제에 대한 내성균의 출현으로 기존 항생제의 약효가 감소하여 내성균에 유용한 새로운 항생제 개발의 필요성이 끊임 없이 제기되고 있다.¹⁾ 가장 일반적인 세균의 내성 기전은 β -lactam 항생제를 파괴시키는 β -lactamase라는 효소를 내성균이 분비하여 항생제의 약효를 제거하는 것이다. 이러한 내성균 문제를 극복하는 방법으로 β -lactamase 효소에 안정한 항생제를 개발하는 방법이 있으나, 이들도 곧 새로운 β -lactamase 효소에 파괴되는 경향을 보여 주고 있다. 내성균을 치료할 수 있는 보다 근본적인 방법은 β -lactamase 효소를 파괴하는 β -lactamase 억제제를 개발하고, β -lactam 항생제와 병용 투여하여 β -lactam 항생제를 β -lactamase 효소로부터 보호하는 것이다.

최근에 이러한 β -lactamase 억제제로 clavulanic acid,²⁾ sulbactam³⁾ 및 tazobactam⁴⁾이 개발되어 임상에서 사용되고 있다. 최근 β -Lactamase 억제제로 6-

exomethylene penam 유도체들이 개발되고 있고⁵⁾ 특히, 6-triazolymethylene penem인 **1**(BRL-42715)^{6,7)}과 2는 β -lactamase 억제제에 내성을 갖는 대부분의 β -lactamase에 대하여도 매우 강력한 억제활성을 나타내었다.⁸⁾ 그리고, Chen 등에 의해 exomethylene penam과 sulfone 구조를 갖는 화합물의 β -lactamase에 대한 우수한 억제 효과가 보고되었다.⁹⁾ 이상의 사실을 바탕으로 하여 본 연구자는 보다 우수한 β -lactamase 억제활성을 갖는 구조를 탐색할 목적으로 sulbactam과 tazobactam의 penam 구조와 **1**과 **2**의 6-triazolymethylene 구조를 결합시킨 6-triazolymethylene penam 유도체를 합성하였다.

실험방법

시약 및 기기

본 실험에서 사용된 시약들은 Aldrich사와 Fluka사의 것을 사용하였으며 각종 용매는 특급시약을 사용하였다. ¹H-NMR spectra는 JEOL JNM-EX 90A(90 MHz)와 Varian Gemini 2000(300 MHz)을 사용하여

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-820-5603 (팩스) 02-815-2199

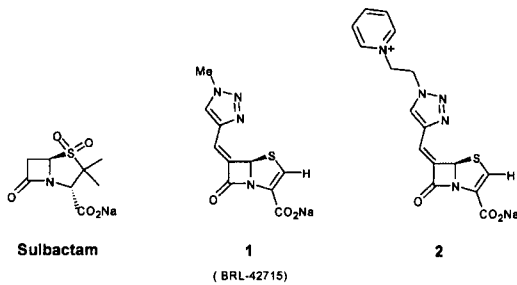


Fig. 1 - Structure of β -Lactamase inhibitors.

얻었고, CDCl_3 의 경우 TMS(tetramethylsilane)를 내부 표준물질로 사용하였고 DMSO- d_6 의 경우 잔류하는 DMSO를 내부 표준물질로 사용하였다. TLC는 Merck silica gel 60 F₂₅₄(thickness 0.2 μm)를 사용하였고, Reverse TLC로는 Merck RP-18F_{254S}(thickness 0.25 mm)를 사용하였으며 UV Lamp로 spot을 확인하였다. 용점측정은 Büchi Melting point B-540을 사용하였고, IR spectra는 Jasco FT/IR 300E를 사용하여 얻었다. Column chromatography는 silica gel(Merck type 9355, 230~400 mesh)을 사용하였고, 역상 column chromatography는 Comosil 75 C₁₈-OPN(42~105 μm , Nacalaitesque, Japan)을 사용하였다.

1-[2-(Benzimidazol-2-yl)thioethyl]-1,2,3-triazole-4-carbaldehyde(4)

1-(2-Hydroxyethyl)-1,2,3-triazole-4-carbaldehyde(3) 4.70 g(33.30 mmol)을 무수 dichloromethane 100 ml에 녹인 용액에 triethylamine 4.68 ml를 가한 후, -15~-20°C로 냉각하고 반응시켰다. 1시간 후, trifluoromethanesulfonic anhydride 5.60 ml(33.29 mmol)를 서서히 가하고 3시간 더 교반하였다. 2-Mercaptobenzimidazole 5.00g(33.29 mmol)과 triethylamine 4.68 ml이 녹아있는 dichloromethane 80 ml용액을 상기 반응혼합액에 -15~-20°C에서 40분 동안에 적가한 후, 실온에서 하루 방치하였다. 반응혼합물을 dichloromethane으로 추출하고 5% NaCl용액으로 세척한 후, 무수 Na_2SO_4 로 탈수하고 감압 농축하여 얻은 생성물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 4 3.52g (39%)을 얻었다 : $R_f=0.30$ (hexane : ethylacetate=1:2); mp: 151~153°C; IR(CHCl_3) 3790, 1694 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 3.85(t, 2H, $J=6.3\text{Hz}$), 4.92(t, 2H, $J=6.3\text{Hz}$), 7.08~7.46(m, 4H), 8.91(s, 1H), 10.00(s, 1H).

p-Methoxybenzyl 6-Bromo-6-[1-hydroxy-1-[1-[2-(benzimidazol-2-yl)thioethyl]-1,2,3-triazol-4-yl]methyl]penicillanate 1,1-Dioxide(6)

화합물 5 5.43g(10.62 mmol)을 무수 THF 80 ml에 녹인 용액에 CH_3MgBr 4.25 ml(2.50M ether용액)을 가한 후, -78°C에서 20분간 교반하였다. 화합물(4) 2.90 g(10.61 mmol)을 dichloromethane 50 ml에 녹여서 반응액에 가하고, -78°C에서 10시간 반응하였다. 10% NH_4Cl 용액을 가하여 반응을 정지시키고 ethyl acetate로 추출하여 무수 Na_2SO_4 로 탈수시킨 후, 감압 농축하여 얻은 생성물을 실리카겔 컬럼 크로마토 그래피로 정제하여 화합물 6 4.34 g(58%)을 얻었다 : $R_f=0.16$ (hexane : ethylacetate=1:2); IR(CHCl_3) 1804, 1752, 1334 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 1.20(s, 3H), 1.42(s, 3H), 3.45~3.70(m, 5H), 4.40(s, 1H), 4.49~4.75(m, 2H), 4.90~5.35(m, 5H), 5.40 and 5.49(two s, 1H), 6.71~6.80(m, 2H), 6.94~7.73(m, 6H), 7.75 and 7.83(two s, 1H).

p-Methoxybenzyl 6-Bromo-6-[1-acetoxy-1-[1-[2-(benzimidazol-2-yl)thioethyl]-1,2,3-triazol-4-yl]methyl]penicillanate 1,1-Dioxide(7)

화합물 6 7.48 g(10.60 mmol)을 무수 THF 40 ml에 녹인 용액에 pyridine 10.23 ml과 acetic anhydride 10.83 g를 가하고 실온에서 20시간 반응하였다. 반응 혼합물을 dichloromethane로 추출하고 1% HCl, 5% NaHCO_3 및 5% NaCl 용액으로 세척한 후, 무수 Na_2SO_4 로 탈수하고 감압 농축하였다. 생성물을 실리카겔 컬럼 크로마토 그래피로 정제하여 화합물 7 5.90 g(75%)을 얻었다 : $R_f=0.57$ (hexane : ethylacetate =1:2); IR(CHCl_3) 1807, 1755, 1315 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 1.21(s, 3H), 1.50(s, 3H), 2.18(s, 3H), 3.67~3.80(m, 5H), 4.41 and 4.50(two s, 1H), 4.81~5.03(m, 2H), 5.09~5.19(m, 2H), 5.24 and 5.57(two s, 1H), 6.34 and 6.55(two s, 1H), 6.80~6.94(m, 2H), 7.23~7.85(m, 6H), 7.86(s, 1H).

p-Methoxybenzyl (6*Z*)-6-[1-[1-[2-(Benzimidazol-2-yl)thioethyl]-1,2,3-triazol-4-yl]methylene]penicillanate 1,1-Dioxide(8) and *p*-Methoxybenzyl(6*E*)-6-[1-[1-[2-(Benzimidazol-2-yl)thioethyl]-1,2,3-triazol-4-yl]methylene]penicillanate 1,1-Dioxide(9)

화합물 7 5.27 g(7.05 mmol)을 CH₃CN 60 ml에 녹이고 acetic acid 0.85 ml을 가한 후, Zn분말 2.30 g을 넣고 0°C에서 3시간 반응하였다. 반응액을 dichloromethane로 추출하고 5% NaHCO₃으로 세척한 후, 무수Na₂SO₄로 탈수하고 농축하여 얻은 생성물을 실리카겔 컬럼크로마토 그래피로 정제하여 화합물 8 1.62 g(38%)과 화합물 9 0.82 g(19%)을 얻었다.

화합물 8 : R_f=0.20(ethylacetate~hexane=1:1); IR(CHCl₃) 1784, 1754, 1318 cm⁻¹; ¹H-NMR(CDCl₃) δ 1.29(s, 3H), 1.48(s, 3H), 3.69(t, 2H, J=6.8Hz), 3.79(s, 3H), 4.40(s, 1H), 4.83(t, 2H, J=6.8Hz), 5.16(d, 2H, J=5.8Hz), 5.57(s, 1H), 6.80~6.95(m, 2H), 7.23~7.69(m, 7H), 7.92(s, 1H).

화합물 9 : R_f=0.08(ethylacetate~hexane=1:1); IR(CHCl₃) 1773, 1750, 1320 cm⁻¹; ¹H-NMR(CDCl₃) δ 1.26(s, 3H), 1.46(s, 3H), 3.59~3.83(m, 5H), 4.37(s, 1H), 4.82(t, 2H, J=7.0Hz), 5.12(s, 1H), 5.17(d, 2H, J=6.0Hz), 6.83~6.96(m, 2H), 6.98(s, 1H), 7.20~7.71(m, 6H), 8.71(s, 1H).

***p*-Methoxybenzyl(6Z)-6-[1-[1-[2-(Benzimidazol-2-yl)sulfonylethyl]-1,2,3-triazol-4-yl]methylene]penicillanate 1,1-Dioxide(10)**

화합물 8 0.50 g(0.82 mmol)을 dichloromethane 10 ml에 녹이고, *m*-chloroperbenzoic acid(*m*-CPBA) 0.33 g을 넣고 상온에서 20시간 동안 반응시켰다. 반응액을 5% NaHCO₃용액과 물로 세척하고 무수 Na₂SO₄로 건조시킨 후, 실리카겔 컬럼크로마토 그래피로 정제하여 화합물 10을 0.27 g(52%) 얻었다 : R_f=0.24(hexane : ethylacetate=1:2); IR(CHCl₃) 1780, 1751, 1319 cm⁻¹; ¹H-NMR(CDCl₃) δ 1.32(s, 3H), 1.40(s, 3H), 3.83(s, 3H), 4.20~4.41(m, 2H), 4.47(s, 1H), 4.81~5.21(m, 2H), 5.24(d, 2H, J=4.2 Hz), 5.35(s, 1H), 6.89~7.05(m, 2H), 7.15(s, 1H), 7.25~7.85(m, 6H), 7.87(s, 1H).

***p*-Methoxybenzyl (6E)-6-[1-[1-[2-(Benzimidazol-2-yl)sulfonylethyl]-1,2,3-triazol-4-yl]methylene]penicillanate 1,1-Dioxide(11)**

화합물 10을 합성한 방법으로 화합물 9 0.73 g (1.20 mmol)을 사용하여 화합물 11을 0.33 g(43%) 얻었다 : R_f=0.43(ethylacetate~hexane=2:1); IR(CHCl₃)

1773, 1753, 1323 cm⁻¹; ¹H-NMR(CDCl₃) δ 1.28(s, 3H), 1.50(s, 3H), 3.78(s, 3H), 4.08~4.34(m, 2H), 4.44(s, 1H), 4.84~5.23(m, 4H), 5.29(s, 1H), 6.80~6.99(m, 3H), 7.23~7.80(m, 6H), 8.59(s, 1H).

Sodium 6-Bromo-6-[1-hydroxy-1-[1-[2-(benzimidazol-2-yl)thioethyl]-1,2,3-triazol-4-yl]methyl]penicillanate 1,1-Dioxide(12)

화합물 6 0.15 g(0.21 mmol) 무수 dichloromethane 8 ml과 anisole 4 ml에 녹여 -40°C로 냉각하고, 무수 aluminum chloride 0.19g을 넣고 반응시켰다. 1시간 후, 물을 넣어 반응을 중지시키고 0.1N NaOH용액으로 pH를 7.0으로 조절하였다. 수층을 역상 column으로 정제하여 얻은 용액을 동결 건조하여 화합물 13 0.08 g(62%) 얻었다 : R_f=0.27(water : acetonitrile=1:2); IR(Nujol) 1775 cm⁻¹; ¹H-NMR(DMSO-d₆) δ 1.40(s, 3H), 1.47(s, 3H), 3.79~3.85(m, 3H), 4.67 and 4.78(two t, 2H, J=6.5Hz), 5.11 and 5.18(two s, 1H), 5.28 and 5.30(two s, 1H), 7.46~7.73(m, 4H), 8.29 and 8.51(two s, 1H).

위와 같은 방법으로 PMB ester 화합물인 7, 8, 9, 10, 11을 원료로 사용하여 화합물 13, 14, 15, 16, 17을 합성하였다.

Sodium 6-Bromo-6-[1-acetoxy-1-[1-[2-(benzimidazol-2-yl)thioethyl]-1,2,3-triazol-4-yl]methyl]penicillanate 1,1-Dioxide(13)

수득율 71% : R_f=0.31(water : acetonitrile=1:2); IR(Nujol) 1771 cm⁻¹; ¹H-NMR(DMSO-d₆) δ 1.35 and 1.38(two s, 3H), 1.46 and 1.47(two s, 3H), 2.16 and 2.18(two s, 3H), 3.75~3.86(m, 3H), 4.76 and 4.84(two t, 2H, J=6.6Hz), 5.22 and 5.39(two s, 1H), 6.31 and 6.46(two s, 1H), 7.31~7.39(m, 2H), 7.67~7.70(m, 1H), 7.82~7.85(m, 1H), 8.48 and 8.50(two s, 1H).

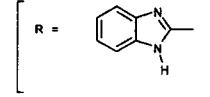
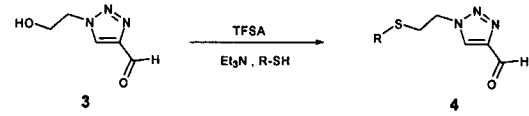
Sodium (6Z)-6-[1-[1-[2-(Benzimidazol-2-yl)thioethyl]-1,2,3-triazol-4-yl]methylene]penicillanate 1,1-Dioxide(14)

수득율 78% : R_f=0.75(water : acetonitrile=1:4); IR(Nujol) 1773 cm⁻¹; ¹H-NMR(DMSO-d₆) δ 1.38(s, 3H), 1.44(s, 3H), 3.75(t, 2H, J=6.5Hz), 3.79(s,

1H), 4.89(t, 2H, $J=6.5\text{Hz}$), 5.74(s, 1H), 7.33~7.40(m, 3H), 7.69(dd, 1H, $J_1=6.6\text{Hz}$, $J_2=2.7\text{Hz}$), 7.83(dd, 1H, $J_1=6.6\text{Hz}$, $J_2=2.7\text{Hz}$), 8.46(s, 1H).

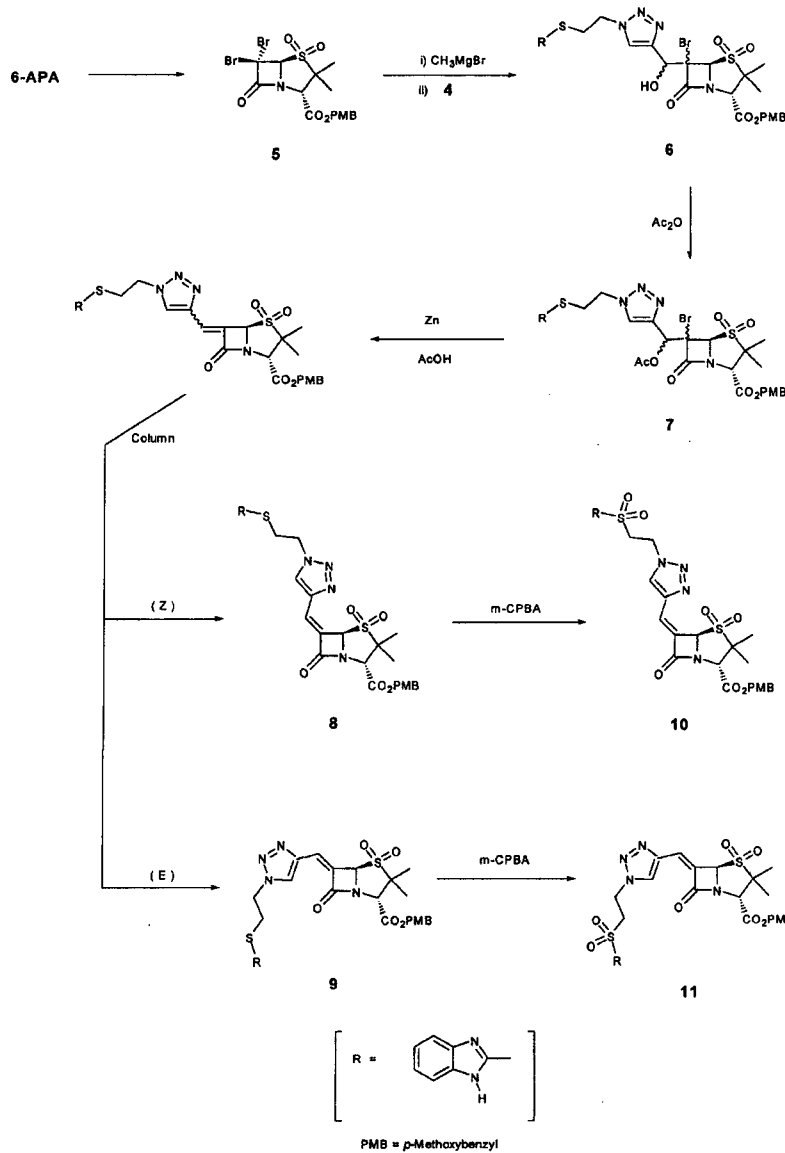
Sodium (6E)-6-[1-[1-[2-(Benzimidazol-2-yl)thioethyl]-1,2,3-triazol-4-yl]methylene]penicillanate 1,1-Dioxide(15)

수득율 84% : $R_f=0.37$ (water : acetonitrile=1:2); IR (Nujol) 1766 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 1.38(s,



TFSA = Trifluoromethanesulfonic anhydride

Scheme 1 – Synthesis of 1-(substituted thioethyl)-1,2,3-triazole-4-carbaldehyde.



Scheme 2 – Synthesis of 6-Exomethylene penams.

(dd, 2H, $J_1=6.0\text{Hz}$, $J_2=3.0\text{Hz}$), 7.28(s, 1H), 7.62 (dd, 2H, $J_1=6.0\text{Hz}$, $J_2=3.0\text{Hz}$), 8.40(s, 1H).

Sodium (6E)-6-[1-[1-[2-(Benzimidazol-2-yl)sulfonylethyl]-1,2,3-triazol-4-yl]methylene]penicillanate 1,1-Dioxide(17)

수득율 82% : $R_f=0.51$ (water : acetonitrile=1:2); IR (Nujol) 1770 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 1.38(s, 3H), 1.50(s, 3H), 3.85(s, 1H), 4.23(t, 2H, $J=6.6\text{Hz}$), 4.96 (t, 2H, $J=6.6\text{Hz}$), 5.53(s, 1H), 6.99(s, 1H), 7.26 (dd, 2H, $J_1=5.8\text{Hz}$, $J_2=3.3\text{Hz}$), 7.65(dd, 2H, $J_1=5.8\text{Hz}$, $J_2=3.3\text{Hz}$), 8.80(s, 1H).

실험결과 및 고찰

Hydroxyethyl 화합물 3을 trifluoromethanesulfonic anhydride로 처리하여 trifluorosulfonyl 유도체로 만든 후, thiol 화합물과 반응시켜 2-치환 thioethyl 화합물을 4를 39%의 수득률로 합성하였다(Scheme 1).

6,6-Dibromopenam 화합물 5를 CH_3MgBr 로 처리한 후, carbaldehyde 화합물 4와 반응하여 hydroxy 화합물 6을 58% 수득률로 얻었다. 이 화합물의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 triazole과 CHOH 의 수소가 singlet이 아니고 2개 이상의 peak를 보여주어서 화합물 6은 stereoisomer의 혼합물임을 알 수 있었다. 이 isomer들은 silica gel column에서 분리가 되지 않았다. 화합물 6을 acetic anhydride로 처리하여 acetoxyl 화합물 7을 75%의 수득률로 얻었고, 이 화합물의 $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 CHOAC 의 peak가 δ 6.34와 6.55에서 크기가 약 3:1인 peak가 관찰되어서 4개의 가능한 stereoisomer 중에서 2개의 isomer가 3:1의 비율로 존재함을 알 수 있었다. 화합물 7을 acetic acid와 Zn으로 처리하여 penam sulfone의 6번 위치에 exomethylene의 2중 결합을 도입하였고, Z-isomer는 38% E-isomer는 19%의 수득률로 얻었다. E-isomer에서 triazole 링의 수소는 β -lactam링의 carbonyl기와 가까이 있기 때문에 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 carbonyl기의 anisotropic 효과에 의하여 peak가 왼쪽으로 이동하였다 (δ 8.71). 그러나, Z-isomer에서 triazole 링의 수소는 carbonyl기와 멀리 떨어져 있어서 anisotropic 효과의 영향을 받지 않았다(δ 7.92).¹⁰⁾ 비슷한 결과가 sulfonyl 화합물 10과 11에서도 발견되었다(Scheme 2).

p-Methoxy ester 화합물 6~11은 AlCl_3 로 처리하여 free carboxylic 화합물로 만든 후, 0.1N NaOH 용액을 사용하여 pH를 7.0으로 조절하여 sodium salt 용액을 만들었다(Scheme 3). β -Lactam 링은 염기에 약하기 때문에 pH 조절에서 0.1N NaOH 용액을 조금씩 적정해야 한다. 이렇게 얻은 sodium salt 용액을 동결건조하고 역상column으로 정제 한 후, 다시 동결건조하여 화합물 12~17을 62~83%의 수득률로 합성하였다.

감사의 말씀

본 연구는 1999년도 중앙대학교 연구지원처 학술연구비의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문헌

- 1) Neu, H. C. : The crisis in Antibiotic Resistance. *Science*. **257**, 1064 (1992).
- 2) Reading, C. and Cole, M. : Clavulanic acid : β -lactamase-inhibiting β -lactam from *Streptomyces clavuligerus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **11**, 852 (1977).
- 3) English, A. R., Retsema, J. A., Girard, A. E., Lynch, J. E. and Barth, W. E. : CP-45,899, β -lactamase inhibitor that extends the antibacterial spectrum of β -lactams; initial bacteriological characterization. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **14**, 414 (1978).
- 4) Micetich, R. G., Maiti, S. N., Spevak, P., Hall, T. W., Yamabe, S., Ishida, N., Tanaka, M., Yamazaki, T., Nakai, A. and Ogawa, K. : Synthesis and β -lactamase inhibitory properties of 2 β -[(1,2,3-triazol-1-yl)methyl]-2 α -methylpenam-3 α -carboxylic acid 1,1-dioxide and related triazolyl derivatives. *J. Med. Chem.* **30**, 1469 (1987).
- 5) Chen, Y. L., Chang, C. W. and Hedberg, K. : Synthesis of a potent β -lactamase inhibitor 1,1-dioxo-6-(2-pyridyl)methylenepenacillanic acid and its reaction with sodium methoxide. *Tetrahedron Lett.* **27**, 3449 (1986).
- 6) Bennett, I. S., Brooks, G., Broom, N. J. P., Calvert, S. H., Coleman, K. and Francois, I. : 6-(Substituted methylene)penams, potent broad spectrum inhibitors of bacterial β -lactamase V. Chiral 1,2,3-triazolyl

- derivatives. *J. Antibiotics* **44**, 969 (1991).
- 7) Bennett, I., Broom, N. J. P., Bruton, G., Calvert, S., Clarke, B. P., Coleman, K., Edmondson, R., Edwards, P., Jones, D., Osborne, N. F. and Walker, G. : 6-(Substituted methylene)penems, potent broad spectrum inhibitors of bacterial β -lactamase III. Structure-activity relationships of the 5-membered heterocyclic derivatives. *J. Antibiotics* **44**, 331 (1991).
- 8) Broom, N. J. P., Brooks, G. and Clark, B. P. : β -(Substituted methylene) penems *Eur. Pat. Appl.* 321187 A1, (1989).
- 9) Chen, Y. L., Chang, C. W., Hedberg, K., Guarino, K., Welch, W. M. and Kiessling, L. : Structure-activity relationships of 6-(heterocyclyl) methylene penam sulfones; a new class of β -lactamase inhibitors. *J. Antibiotics* **40**, 803 (1987).
- 10) Im, C., Micetich, R. G., Daneshmandi, M., Atchison, K., Phillips, O. A., Kunugita, C. : Synthesis and beta-lactamase inhibitory activity of 6-[(1-heteroarylthioethyl-1,2,3-triazol-4-yl)-methylene]pena sulfones. *J. Antibiotics* **47**, 1030 (1994).