

## 아졸을 포함하는 신규 세파로스포린 유도체의 합성 및 항균력

임중인 · 신현태 · 조종환 · 양재성 · 윤석균\* · 김원배 · 장민선 · 최성학 · 임원빈 · 이재결#

동아제약 연구소, \*LG 기술원

(Received June 19, 2000)

### Synthesis and Antibacterial Activities of Some Azole Containing Cephalosporin Derivatives

Joongin Lim, Hyuntae Shin, Chonghwan Cho, Jaeseong Yang, Sukkyoon Yoon\*,  
Wonbae Kim, Minsun Chang, Seonghak Choi, Weonbin Im and Jaekool Rhee#

Dong-A Pharm. Co. Ltd., Research Labs, Yongin 449-900, Korea

\*LG Chemical Ltd. Research Park, Taejon 305-380, Korea

**Abstract** — 9 New cephalosporin derivatives were synthesized and screened for antibacterial activities against various bacteria. (6R,7R)-7 $\beta$ -[(Z)-2-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-(fluoromethoxyimino)acetamido]-3-[(2-hydroxycarbamoyl)-s-triazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]thiomethyl]-3-cephem-4-carboxylic acid sodium salt (compound 3) showed 2 fold enhanced *in vitro* activity against *P. aeruginosa*, compared to ceftazidime.

**Keywords** □ Cephalosporin, MIC, aminothiazole, aminothiadiazole.

1940년대부터 사용 되어온  $\beta$ -lactam 항생제는 끊임없이 생성하는 내성균에 대처하고 항균 스펙트럼을 확대하기 위한 노력으로 기존의 화학구조를 수식하여왔다. 많은 cephalosporin 항생제가 사용되고 있지만 소위 4세대 주사제인 cefpirome은 Gram(+) 에서는 뛰어난 항균력을 가지나 *P. aeruginosa*을 비롯한 Gram(-)균에서는 약한 항균력을 보이는 것이 단점이다. 그동안 녹농균에 대한 항균력을 향상시키기 위해서 C-3위치에 quarternized heteroring,<sup>1-3)</sup> C-7혹은 C-3위치에 catechol moiety<sup>4-7)</sup>의 도입이 시도되어 왔으나 만족할 만한 결과를 주지 못했다. Farmitalia Carlo Erba사에서는 C-7위치에 catechol, C-3위치에는 여러형태의 azole기가 도입된 유도체를 소개한적이 있으나 O-methyltransferase등에 의해서 분해되는 등의 단점이 있었다.<sup>8)</sup> 또한 Sankei사에서도 몇 가지 azole moiety를 side

chain으로 도입한 유도체를 보고한 바 있다.<sup>9)</sup> 본 연구소에서는 ceftazidime과는 적어도 동등한 *P. aeruginosa*에 대한 항균력을 보이고 동시에 cefpirome보다는 Gram(+)에 뛰어난 후보 물질을 발견하려는 노력의 일환으로 catechol을 포함하지 않는 s-triazolo[1,5-a]pyrimidine과 pyrazolo[1,5-a]pyrimidine을 포함하는 신규 cephalosporin 유도체를 합성하여 항균력을 조사하였고 제한된 범위에서나마 구조활성관계를 유도할 수 있었다.

#### 실험방법

##### 시약 및 기기

본 실험에서 사용되어온 시약들은 Aldrich사와 Fluka사의 것을 사용하였으며 각종용매는 특급시약을 사용하였다. <sup>1</sup>H-NMR spectra는 Varian(300 MHz)을 사용하여 얻었고 CDCl<sub>3</sub>의 경우 TMS를 내부 표준 물질로 사용하였다. DMSO-d<sub>6</sub>의 경우 잔류하는 DMSO

# 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 031-280-1401 (팩스) 031-282-8564

를 내부표준물질로 사용하였다. TLC(thickness 0.2  $\mu\text{m}$ )를 사용하였고 UV lamp로 spots을 확인하였다. 컬럼 크로마토그래피는 silica gel(Merck type 9385, 230~400 mesh)을 사용하였다.

#### 세파로스포린 유도체들의 합성

**(6R,7R)-7 $\beta$ -(Z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(fluoromethoxyimino)acetamido]-3-[(2-hydroxycarbamoyl)-s-triazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl)thiomethyl]-3-cephem-4-carboxylic acid Sodium Salt(화합물 1)의 합성** - p-methoxybenzyl-7-amino-3-chloromethyl-3-cephem-4-carboxylate(ACLE, S-1, 35 g), (Z)-2-(2-tritylaminothiazol-4-yl)-2-(fluoromethoxyimino)acetic acid(43.7 g)과 1-hydroxybenzotriazole(14.5 g)을 DMF(200 mL)에 녹인다. 반응액을 0°C로 냉각한 후에 dicyclohexylcarbodiimide(23.7 g)을 DMF(50 mL)에 녹여 30분간 적가하고 실온에서 2시간 교반한다. 반응액을 여과하고 여과액을 ethylacetate(1 L)에 가하여 물, 포화식염수로 세척한다. 유기층을  $\text{MgSO}_4$ 로 탈수하고 감압 농축시켜 목적화합물 p-methoxybenzyl-7 $\beta$ -(Z)-2-(2-tritylaminothiazol-4-yl)-2-(fluoromethoxy imino)acetamido]-3-chloromethyl-3-cephem-4-carboxylate(47 g)을 얻었다:

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$   $\delta$ : 3.66(2H, brs), 3.72(3H, s), 4.46(2H, brs), 5.1~5.42(4H, m), 6.02~6.20(2H, m), 5.93(1H, s), 6.70~7.82(19H, m).

위의 공정으로 얻은 물질을  $\text{CHCl}_3$ (200 mL)에 녹이고 m-CPBA(20 g)를  $\text{CHCl}_3$ (300 mL)에 녹인 용액을 2시간 동안 적가하고 1시간 교반한다. 이 반응액을 감압 농축한 후 isopropylether로 세척 건조한다. 이것을 실리카겔 컬럼크로마토그래피로 정제하여 p-methoxybenzyl (6R,7R)-7 $\beta$ -(Z)-2-(2-tritylaminothiazol-4-yl)-2-(fluoromethoxyimino)acetamido]-3-chloromethyl-3-cephem-4-carboxylate-1-oxide(57.2 g)를 얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{DMSO}-d_6)$   $\delta$ : 3.22, 3.72(2H, ABq,  $J=18$  Hz), 3.69(s, 3H), 4.15, 4.72(2H, ABq,  $J=12$  Hz), 4.51(1H, d,  $J=5$ Hz), 5.12, 5.38(3H, m), 5.98~6.17(2H, m), 6.88(1H, s), 6.72~7.78(19H, m).

위의 oxide(16.6 g)를 DMF(100 mL)에 용해한다. 이 용액에 2-carboxy-7-mercaptos-triazolo-[1,5-a]pyrimidine(5.5 g), DBU(4.2 mL)를 DMF(200 mL)에 용

해시킨 후 빙냉하에서 10분간 적가하고 실온에서 4시간 교반한다. 반응액을 diisopropylether(2.6 L)에 적가하고 석출물을 여과한 후 isopropylether로 세척, 건조하면 p-methoxybenzyl-7-(Z)-2-(2-tritylaminothiazol-4-yl)-2-(fluoromethoxyimino)acetamido]-3-[(2-carboxy-s-triazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl)thiomethyl]-3-cephem-4-carboxylate-1-oxide(25.8 g)를 얻는다. 이 화합물(25.8 g)을 p-methoxybenzylamine(6.13 g), 1-hydroxybenzo triazole(6.13 g)와 함께 DMF(50 mL)에 용해한다. 이 용액에 dicyclohexylcarbodiimide(8.25 g)를 DMF(30 mL)에 용해시켜 적가한다. 반응액을 실온에서 4시간 교반한 후 여과하고 여액을 물(3.6L)에 적가한다. 석출물을 여과 후  $\text{CHCl}_3$ (700 mL)에 녹여  $\text{MgSO}_4$ 로 건조 후 여액을 isopropylether(2.6L)에 적가하여 결정 24.1 g을 얻었다. 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 p-methoxybenzyl-7 $\beta$ -(Z)-2-(2-tritylaminothiazol-4-yl)-2-(fluoromethoxyimino)acetamido]-3-[(2-p-methoxybenzyloxycarbamoyl)-s-triazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl)thiomethyl]-3-cephem-4-carboxylate-1-oxide(11.3 g)를 얻었다. 이 물질(11.3 g)을 DMF(60 mL)에 녹인후 0°C로 냉각한다. 이 용액에 trichlorophosphate(2 mL)를 적가하고 30분간 교반한 후 얼음물(400 mL)에 반응액을 가한 후 생성된 고체를 여과한다. 그 고체를  $\text{CHCl}_3$ (200 mL)에 용해 후  $\text{MgSO}_4$ 로 건조하고 여액을 isopropylether(400 mL)에 적가하면 p-methoxybenzyl-7-(Z)-2-(2-tritylaminothiazol-4-yl)-2-(fluoromethoxyimino)acetamido]-3-[(2-p-methoxybenzyloxycarbamoyl)-s-triazolo[1,5-a]pyrimidine-7-yl)thiomethyl]-3-cephem-4-carboxylate(7.85 g)를 얻는다. 이렇게 얻은 물질(7.85 g)을  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (25 mL), anisole(25 mL)에 녹인 후 0°C로 냉각한다. Trifluoroacetic acid(50 mL)를 적가 후 실온에서 4시간 교반한다. 반응액을 ethylether(700 mL)에 적가하여 석출물을 여과하여 5g의 고체를 얻었다. 위의 결정을 DMF(30 mL)에 용해 후 sodium 2-ethylhexanoate(5.32 g)를 methanol(50 mL)에 녹인 용액을 가한다. 이 용액을 ether(1 L)에 적가하여 석출물을 여과한 후 ether로 세척 건조한다. 얻어진 연백색 분말 5.7 g을 다이아이온 HP-20 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 원하는 화합물 1(1.8 g, 수율: ACLE로부터 10%)을 분말로 얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{DMSO}-d_6)$   $\delta$ : 3.37, 3.56(2H, ABq,  $J=$

18Hz), 4.54, 4.63(2H, ABq,  $J=18$ Hz), 4.99(1H, d,  $J=4.6$  Hz), 5.55(3H, m), 5.83(3H, brs), 6.87(1H, s), 7.23(2H, brs), 7.95(1H, d,  $J=4.6$ Hz), 8.64(1H, d,  $J=4.6$ Hz), 9.52(1H, d,  $J=8.6$ Hz).

**(6R,7R)-7b-[(Z)-2-(2-amino-thiazol-4-yl)-2-(fluoromethoxyimino)acetamido]-3-[(3-hydroxycarbonyl)-pyrazolo[1,5-a]-pyrimidin-7-yl]thiomethyl]-3-cephem-4-carboxylic acid sodium salt(화합물 2)의 제조** - 화합물 1 제조과정 과정에서 얻은 중간체인 p-Methoxybenzyl-(6R,7R)-7β-[(Z)-2-(2-tritylamino-thiazol-4-yl)-2-(fluoromethoxyimino)acetamido]-3-chloromethyl-3-cephem-4-carboxylate-1-oxide(10.4 g)를 DMF(50 mL)에 용해시킨다. 이 용액에 3-Carboxy-7-mercapto-pyrazolo[1,5-a]pyrimidine(3.51 g), DBU(3.0 mL)를 DMF(30 mL)에 용해시킨 후 빙냉하에서 10분간 적가하고 실온에서 3시간 교반한다. 반응액을 diisopropylether(1.6 L)에 적가하고 석출물을 여과한 후 isopropylether로 세척, 건조하면 p-Methoxybenzyl-7β-[(Z)-2-(2-tritylaminothiazol-4-yl)(fluoromethoxyamino)acet amido]-3-[(3-carboxy-s-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl)thiomethyl]-3-cephem-4-carboxylate-1-oxide(20.2 g)를 얻는다. 이 물질(20.2 g), p-methoxybenzyloxyamine(3.83 g), 1-hydroxybenzotriazole(3.83 g)을 DMF(50 mL)에 용해한다. 이 용액에 dicyclohexyl carbodiimide(5.16 g)를 DMF(20 mL)에 용해시켜 적가한다. 반응액을 실온에서 4시간 교반한 후 여과하고 여액을 물(2.6 L)에 적가한다. 석출물을 여과 후  $\text{CHCl}_3$ (500 mL)에 녹여  $\text{MgSO}_4$ 로 건조한 후 여액을 isopropylether(1.8L)에 적가하여 결정 24.1 g을 얻는다. 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 p-Methoxybenzyl-7β-[(Z)-2-(2-tritylamino-thiazol-4-yl)-2-(fluoromethoxyimino)acetamido]-3-chloromethyl-3-cephem-4-carboxylate-1-oxide(6.0 g)를 얻는다. 3-carboxy-7-mercapto-pyrazolo[1,5-a] pyrimidine(4.4 g)을 사용하여 화합물 1제조와 동일한 방법으로 최종 화합물 2(0.9 g, 수율: ACLE로부터 8%)을 얻었다.

$^1\text{H}$  NMR(DMSO- $d_6$ + $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$ : 3.62(2H, brs), 4.50(2H, brs), 5.20(1H, d,  $J=5$ Hz), 5.39(1H, s), 5.79(1H, d,  $J=5$ Hz), 6.33(1H, s), 7.06(1H, s), 7.52(1H, d,  $J=5$ Hz), 8.58(1H, d,  $J=5$ Hz), 8.63(1H, s)

**(6R,7R)-7β-[(Z)-2-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-**

**yl)-2-(fluoromethoxyimino)acetamido]-3-[(2-hydroxycarbonyl)-s-triazolo[1,5-a]-pyrimidin-7-yl]thiomethyl]-3-cephem-4-carboxylic acid sodium salt(화합물 3)의 제조** - p-Methoxybenzyl-7-amino-3-chloromethyl-3-cephem-4-carboxylate(20.3 g), (Z)-2-(5-tritylamino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-(fluoromethoxyimino) acetic acid(39.55 g)과 1-hydroxybenzotriazole(8.4 g)을 DMF(30 mL)에 녹여 30분간 적가하고 실온에서 2.5시간 교반한다. 반응액을 여과하고 여과액을 ethylacetate(500 mL)에 가하여 물, 포화식염수로 세척한다. 유기층을  $\text{MgSO}_4$ 로 탈수하고 감압 농축시켜 p-methoxybenzyl-7β-[(Z)-2-(5-tritylamino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-(fluoromethoxyimino)acetamido]-3-chloromethyl-3-cephem-4-carboxylate(60 g)를 얻을 수 있었다.

$^1\text{H}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 3.53, 3.74(2H, ABq,  $J=18$  Hz), 3.73(3H, s), 4.46, 4.93(2H,  $J=18$  Hz), 5.74(1H, d,  $J=5.5$  Hz), 5.82(1H, dd,  $J=5.85$  Hz), 6.92(2H, d,  $J=6.7$  Hz), 7.25~7.39(17H, m), 9.74(1H, d,  $J=8.6$  Hz), 10.1(1H, s) 위에서 얻은 중간체를  $\text{CHCl}_3$ (100 mL)에 녹이고 여기에 m-CPBA(10.35 g)를  $\text{CHCl}_3$ (150 mL)에 녹인 용액을 1.5시간 동안 적가하고 1시간 교반한다. 이 반응액을 감압 농축한 후 isopropylether(2L)에 적가하고 석출물을 여과한 후 isopropylether로 세척 건조한다. 이것을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 p-methoxybenzyl-(6R,7R)-7β-[(Z)-2-(2-tritylamino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-(fluoromethoxyimino)acetamido]-3-chloromethyl-3-cephem-4-carboxylate-1-oxide(28.5 g)를 얻었다.

$^1\text{H}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 3.25, 3.70(2H, ABq,  $J=18$  Hz), 3.69(3H, s), 4.12, 4.69(2H, ABq,  $J=12$  Hz), 4.48(1H, d,  $J=5$  Hz), 5.04~5.35(3H, m), 5.95~6.18(2H, m), 6.88~7.77(19H, m)

위에서 얻은 화합물(12.44 g)을 DMF(100 mL)에 용해한다. 이 용액을 2-carboxy-7-mercapto-s-triazolo[1,5-a]pyrimidine(4.12 g), DBU(3.14 mL)를 DMF(40 mL)에 용해시킨 후 빙냉하에서 10분간 적가하고 실온에서 4시간 교반한다. 반응액을 diisopropylether(3.5 L)에 적가하고 석출물을 여과하고 isopropylether로 세척, 건조하면 p-methoxybenzyl-7β-[(Z)-2-(5-tritylamino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-(fluoromethoxyimino)acetamido]-3-[(2-carboxy-s-triazolo[1,5-a]py-

rimidin-7-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carboxylate-1-oxide(20.1 g)를 얻었다. 상기 물질을 DMF(50 mL)에 용해시킨 후 p-methoxybenzyloxyamine(4.6 g), 1-hydroxybenzotriazole(4.6 g)을 DMF(50 mL)에 용해한다. 이 용액에 dicyclohexylcarbodiimide(6.2 g)를 DMF(20 mL)에 용해시켜 적가한다. 반응액을 실온에서 4시간 교반한다. 석출물을 여과 후  $\text{CHCl}_3$ (500 mL)에 녹여  $\text{MgSO}_4$ 로 건조 후 여액을 isopropylether (2.6L)에 적가하여 결정 21.8 g을 얻었다. 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 p-methoxybenzyl-7 $\beta$ -[(Z)-2-(5-tritylamino-1,2,4-thiadiazol-4-yl)-2-(fluoromethoxyamino)acetamido]-3-[(2-p-methoxybenzyloxycarbonyl)-s-triazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl)thiomethyl]-3-cephem-4-carboxylate-1-oxide(7.2 g)를 얻었다. 이후 화합물 1과 동일한 방법으로 화합물 3(0.6 g, 수율: ACLE로부터 5%)을 얻을 수 있었다.

$^1\text{H NMR}(\text{DMSO}-d_6)$   $\delta$ : 3.56(2H, s), 4.44~4.68(2H, m), 5.08(1H, d,  $J=5$  Hz), 5.37(1H, s), 5.72(1H, d,  $J=5$  Hz), 6.27(1H, s), 7.64(1H, d,  $J=5$  Hz), 8.67(1H, d,  $J=5$  Hz)

**(6R,7R)-7 $\beta$ -[(Z)-2-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-(fluoromethoxyimino)acetamido]-3-[(3-hydroxycarbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]thiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid sodium salt (화합물 4)의 제조** - 3-carboxy-7-mercapto-pyrazolo[1,5-a]pyrimidine(4.1 g)과 화합물 3 제조공정의 중간체인 p-methoxybenzyl-(6R,7R)-7 $\beta$ -[(Z)-2-(2-tritylamino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-(fluoromethoxyimino)acetamido]-3-chloromethyl-3-cephem-4-carboxylate-1-oxide(12.44 g)를 사용하여 화합물 3의 제조 공정과 동일한 방법으로 화합물 4(1.2 g, 수율: ACLE로부터 15%)를 얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{DMSO}-d_6+\text{D}_2\text{O})$   $\delta$ : 3.58(2H, s), 4.55(2H, brs), 5.14(1H, d,  $J=5$  Hz), 5.40(1H, s), 5.77(1H, d,  $J=5$  Hz), 6.29(1H, s), 7.55(1H, d,  $J=5$  Hz), 8.53(1H, d,  $J=5$  Hz), 8.65(1H, s)

**(6R,7R)-7 $\beta$ -[(Z)-2-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-(fluoroethoxyimino)aceoamido]-3-[(3-hydroxycarbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]thiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid sodium salt(화합물 5)의 제조** - p-methoxybenzyl-7-[(Z)-2-(5-tritylamino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-(2-fluoroethoxyimino)

acetamido]-3-[(2-carboxy-s-triazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl)-thiomethyl]-3-cephem-4-carboxylate-1-oxide(13 g)와 3-carboxy-7-mercapto-pyrazolo[1,5-a]pyrimidine(5.6 g)에서부터 화합물 4의 제조 공정과 동일한 방법으로 화합물 5(0.85 g, 수율: ACLE로부터 8.4%)을 얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{DMSO}-d_6)$   $\delta$ : 3.56(2H, m), 4.26(1H, m), 4.39(1H, m), 4.38(3H, m), 4.73(1H, m), 4.97(1H, d,  $J=5$  Hz), 5.58(1H, dd,  $J=8.6, 5$  Hz), 7.71(1H, d,  $J=5$  Hz), 8.09(1H, brs), 8.49(1H, d,  $J=5$  Hz), 8.54(1H, s), 9.21(1H, brs), 9.50(1H, d,  $J=8.6$  Hz), 10.2(1H, brs)

**(6R,7R)-7 $\beta$ -[(Z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[(3-hydroxycarbonyl)-s-triazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]thiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid sodium salt(화합물 6)의 제조** - 2-carboxy-7-mercapto-s-triazolo[1,5-a]pyrimidine(5.5 g)와 p-methoxybenzyl-(6R,7R)-7 $\beta$ -[(Z)-2-(2-tritylamino-thiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-chloromethyl-3-cephem-4-carboxylate-1-oxide(11.2 g)로부터 화합물 1의 제조공정과 동일한 방법으로 화합물 6(0.92 g, 수율 8.2%)을 얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{DMSO}-d_6)$   $\delta$ : 3.38, 3.60(2H,  $J=18$  Hz), 3.78(3Hs), 4.45, 4.71(2H,  $J=18$  Hz), 4.96(1H, d,  $J=4.7$  Hz), 5.53(1H, dd,  $J=4.7$  Hz, 8.3 Hz), 6.87(1H, s), 7.26(2H, brs), 7.96(1H, d,  $J=5.2$  Hz), 8.64(1H, d,  $J=5.2$  Hz), 9.20(1H, d,  $J=8.3$  Hz), 10.1(1H, brs)

**(6R,7R)-7 $\beta$ -[(Z)-2-(2-amino-thiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[(3-hydroxycarbonyl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]thiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid sodium salt(화합물 7)의 제조** - (6R,7R)-7-[(Z)-2-(2-tritylamino-thiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-chloromethyl-3-cephem-4-carboxylate-1-oxide(12.4 g)와 3-Carboxy-7-mercaptopyrazolo[1,5-a]pyrimidine(5.4 g) 화합물 2의 제조공정과 동일한 방법으로 화합물 7(0.4 g, 수율 ACLE로부터 6.4%)를 얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{DMSO}-d_6)$   $\delta$ : 3.35, 3.55(2H, ABq,  $J=17$  Hz), 3.80(3H, s), 4.52(2H, m), 4.99(1H, d,  $J=4.6$  Hz), 5.54(1H, dd,  $J=4.6, 8.2$  Hz), 6.71(1H, s), 7.17(2H, brs), 7.79(1H, d,  $J=5$  Hz), 8.49(1H, d,  $J=5$  Hz), 8.55(1H, s), 9.18(1h, brs), 9.49(1H, d,  $J=$

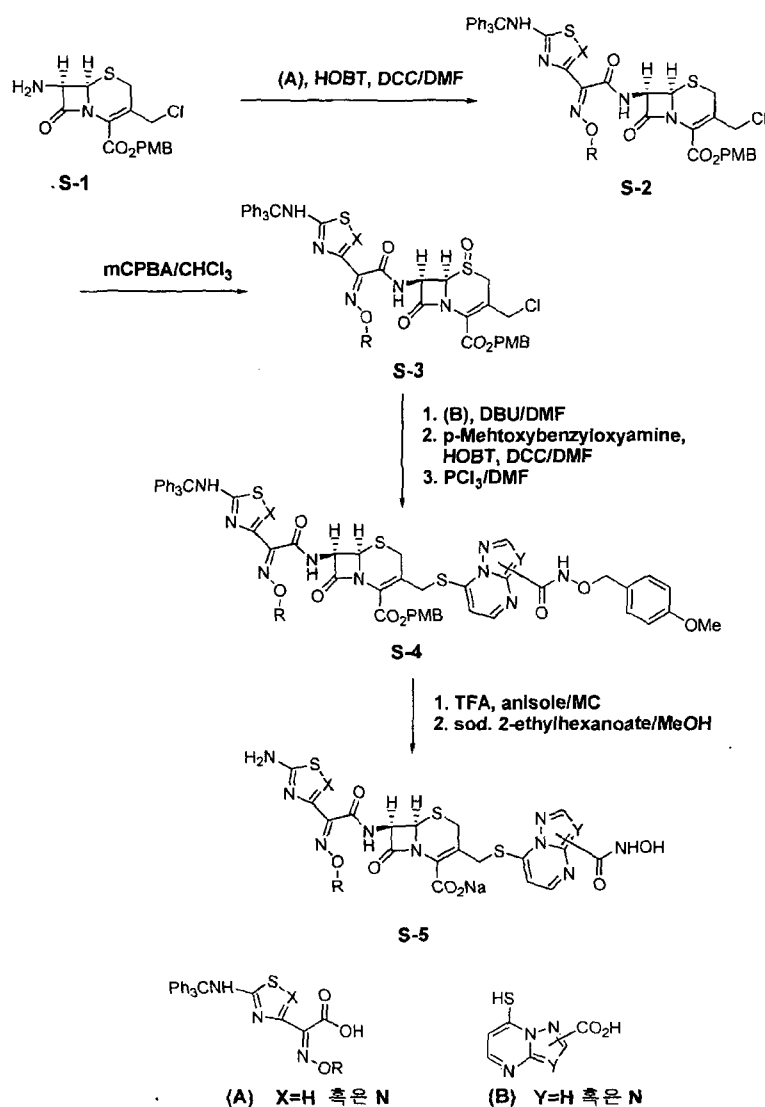
8.2 Hz), 10.2(1H, brs)

**(6R,7R)-7β-[(Z)-2-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[(3-hydroxycarbonyl-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl)thiomethyl]-3-cephem-4-carboxylic acid sodium salt (화합물 8)의 제조** - 3-carboxy-7-mercapto-pyrazolo[1,5-a]pyrimidine (6.1 g)와 p-methoxybenzyl-(6R,7R)-7β-[(Z)-2-(2-tritylamino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-chloromethyl-3-cephem-4-carboxylate-1-oxide (14.5 g)에서 부터 화합물 4의 제조 공정과 동일한 방법으로 화합물 8 (1.1 g, 수율: ACLE로부터

9.8%)를 얻었다.

<sup>1</sup>H NMR(DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 3.36, 3.57(2H, J=17.2 Hz), 3.81(3H, s), 4.45(2H, m), 4.99(1H, d, J=4.8 Hz), 5.60(1H, dd, J=4.8 Hz), 7.72(1H, d, J=4.6 Hz), 8.09(2H, brs), 8.50(1H, d, J=4.6 Hz), 8.55(1H, s), 9.20(1H, brs), 9.47(1H, d, J=8.6 Hz), 10.2(1H, brs)

**(6R,7R)-7β-[(Z)-2-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[(3-hydroxycarbonyl-s-triazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl)thiomethyl]-3-cephem-4-carboxylic acid sodium salt (화합물 9)의 제조** - 2-carboxy-7-mercapto-s-triazolo[1,5-



**Scheme 1.** Synthetic pathway for s-triazolo[1,5-a]pyrimidine derivatives and pyrazolo[1,5-a]pyrimidine derivatives.

a]pyrimidine(4.12 g)와 p-methoxybenzyl-(6R,7R)-7β-[(Z)-2-(2-tritylamino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-chloromethyl-3-cephem-4-carboxylate-1-oxide(13.55 g)에서 부터 화합물 3의 제조공정과 동일한 방법으로 화합물 9(0.9 g, 수율: ACLE로부터 9%)를 얻었다.

<sup>1</sup>H NMR(DMSO-d<sub>6</sub>) δ : 3.32, 3.58(2H, J=18 Hz), 3.75(3H, s), 4.49, 4.63(2H, J=18 Hz), 4.98(1H, d, J=4.9 Hz), 5.59(1H, dd, J=4.9, 8.1 Hz), 7.97(1H, d, J=5.2 Hz), 8.12(2H, brs), 8.65(1H, d, J=5.2 Hz), 9.40(1H, brs), 9.65(1H, d, J=8.1 Hz), 10.6(1H, brs)

**항균력 측정 (MIC)**

MIC(Minimum Inhibitory Concentration)는 일본 화학 요법학회 표준법에 따라 Muller Hinton agar(Difco)를 사용하여 한천희석법으로 측정하였다. 시험 균주는 동아제약(주)연구소에서 계대 배양한 균주를 사용하였으며 대조 항균제로는 Cefpirome(Hoechst사)과 Ceftazidime(Glaxo사)을 사용하였다.

**실험결과 및 고찰**

**Cephalosporin 합성**

신규 유도체의 합성(Scheme 1)은 7-ACLE(S-1)을 출발물질로 사용하였다. Hydroxybenzotriazole(HOBT)

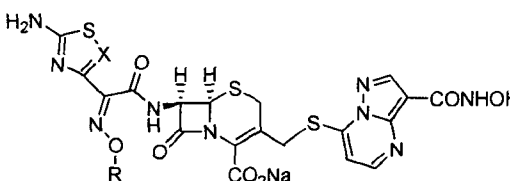
과 DCC 존재 하에서 A moiety인 AMT 혹은 AMTD의 carboxylic acid와 7-ACLE의 amine과의 반응에서 화합물 S-2를 합성 후 m-CPBA를 사용 sulfoxide 화합물 S-3을 얻었다. S-3의 chloride를 DBU 존재하에서 B moiety의 thiol기와 치환한후 이어서 HOBT와 DCC 존재하에서 p-methoxybenzylamine과의 amide결합을 생성시킨 후 PCl<sub>3</sub>로 deoxygenation 시켜 S-4를 얻었다. Trifluoroacetic acid로 trityl기와 p-methoxybenzyl기를 제거한 후 sodium 2-hexanoate의 처리로 최종화합물 S-5을 sodium형태로 얻을 수 있었다.

**구조 활성관계**

Pyrazolo[1,5-a]pyrimidine유도체들의 구조활성 관계를 나타낸 Table I에서는 7-위치의 AMT(Amino-thiazole) 혹은 AMTD(Aminothiadiazole)를 포함하는 대부분 유도체들이 Cefpirome보다 *S. aureus* 균에 우수한 항균력을 보여주고 있으나 *P. aeruginosa*에 대해서는 AMT보다 AMTD를 포함하는 물질이 우수한 항균력을 보여주고 있다.

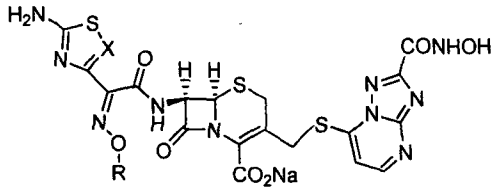
한편 s-triazolo[1,5-a]pyrimidine유도체의 *P. aeruginosa*에 대한 항균력(Table II) 결과를 살펴보면 AMT를 포함하는 화합물 1과 화합물 6이 Ceftazidime과 동등한 항균력을 보이고 있다. AMTD를 포함하는 화합물 3경우는 Ceftazidime 보다 2배 이상 우

**Table I** - Pyrazolo-pyrimidine 유도체들의 *in vitro* 항균력 (MIC<sub>mean</sub>, µg/mL)



X	CH			N				CPR	CAZ
	R (*)	CH <sub>3</sub> (7)	CH <sub>2</sub> F (2)	CH <sub>3</sub> (8)	CH <sub>2</sub> F (4)	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> (#)	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> F (5)		
<i>S. aureus</i>	0.14	0.06	0.47	0.56	0.47	0.56	0.56	0.97	11.36
<i>E. coli</i>	0.04	0.06	0.03	0.031	0.025	0.04	0.03	0.025	0.06
<i>K. pneumoniae</i>	0.04	0.1	0.05	0.03	0.025	0.07	0.05	0.03	0.04
<i>E. cloacae</i>	0.06	0.04	<0.025	<0.025	<0.025	0.1	0.05	0.025	0.04
<i>S. marcescens</i>	0.69	0.13	0.15	0.16	0.2	0.39	0.25	0.05	0.16
<i>P. mirabilis</i>	0.18	0.15	0.13	0.12	0.12	0.39	0.25	0.1	0.07
<i>P. aeruginosa</i>	25	12.5	7.55	3.13	5	3.13	3.13	5	2.5

\*,# 참고문헌 10번 참조, CPR: Cefpirome, CAZ: Ceftazidime

**Table II** - s-Triazolo-pyrimidine 유도체들의 *in vitro* 항균력 (MIC<sub>mean</sub>, µg/mL)


X	CH		N		CPR	CAZ
	R (화합물)	CH <sub>3</sub> (6)	CH <sub>2</sub> F (1)	CH <sub>3</sub> (9)		
<i>S. aureus</i>		0.78	0.06	1.74	1.12	11.36
<i>E. coli</i>		<0.025	<0.025	0.03	<0.025	0.06
<i>K. pneumoniae</i>		0.03	0.03	0.03	<0.025	0.04
<i>E. cloacae</i>		<0.025	<0.025	<0.025	<0.025	0.04
<i>S. marcescens</i>		0.13	0.13	0.32	0.13	0.16
<i>P. mirabilis</i>		<0.025	<0.025	0.06	0.06	0.07
<i>P. aeruginosa</i>		2.68	2.68	1.56	0.94	2.5

수한 것으로 나타났고 Gram(+)균에서도 일반적으로 Cefpirome보다 낮은 MIC값을 보여주고 있다. 화합물 3에 대해서는 *in vivo*에서의 감염 치료 효과등 후속연구를 진행중이다.

### 감사의 말씀

본 연구의 일부는 1999년도 차세대 정밀화학 기술 개발 사업의 일환으로 과학기술처의 연구비 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

### 문헌

- 1) Adams, R. G., Brain, E. G., Branch, A. W., Harrington, F. P., Mizen, L., Neale, J. N., and Zomaya, I. I. : Structure-Activity Relationships within a Series of C(7)-substituted oxyiminocephalosporins containing the C(3)-methylamino pyridiniumthiomethyl substituent synthesis and biological properties of BRL 57342 and some Analogues, *The Journal of Antibiotic*, **48**, 417 (1995).
- 2) Csebodes, B. W., Tosch, M. W. : Cephalosporin antibiotics, Synthesis and Antimicrobial activity of 7,3[2-

(5-Amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-oxyiminoacet amido] cephalosporin derivatives, *The Journal of Antibiotic*, **36**, 1020 (1983).

- 3) Hecker, S. J., Cho, I., Glinka, T. W., Zhijia, Z. J., Price, M. E., Lee, V. J., Christensen, B. G., Ludwikow, M., David, K. M. and Williams, R. : Discovery of MC-02331, a new cephalosporin exhibiting potent activity against Methicillin-resistant Staphylococcus aureus, *The Journal of Antibiotic*, **51**, 722 (1998).
- 4) Kyung, I. C., Cha, J. H., Pae, A. N., Cho, Y. S., Kang, H., Koh, H. Y. and Chang, M. H. : Studies on new catechol-containing cephalosporins II. Synthesis and Structure-Activity Relationships of Cephalosporin having a catechol moiety at the C-7 position, *The Journal of Antibiotic*, **48**, 1375 (1995).
- 5) Patent EP 0286 144 (1988).
- 6) Patent EP 0544 166 (1992).
- 7) Ohi, N., Aoki, B., Kuroki, T., Matsumoto, M. Kojima, K., and Nehashi, T. : Semisynthetic-β-lactam antibiotics, *The Journal of Antibiotic*, **40**, 22 (1987).
- 8) Patent GB 2 053 896A (1980).
- 9) Patent USP 4 956 462 (1990).
- 10) 대한민국 특허 : 출원번호 95-44287 (1995).