

6-엑소메틸렌 펜남 유도체의 합성

임채욱 · 윤상배 · 김용현 · 정미량 · 임철부*

중앙대학교 약학대학 의약화학 교실

(Received September 19, 2003; Revised October 2, 2003)

Synthesis of 6-Exomethylene Penams Derivatives

Chaeuk Im, Sang Bae Yoon, Yong Hyun Kim, Mi Ryang Chung 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 substituted triazole ring was described. The 6,6-dibromopenam **5** was reacted with CH_3MgBr and substituted triazole **4** to afford the 6-bromo penicillanate **6**, which was treated with acetic anhydride to give acetoxy compound **7**. The deacetobromination of acetoxy compound **7** with zinc and acetic acid gave 6-exomethylene penams **8**, which was oxidized to sulfones **9** by *m*-CPBA. The *p*-methoxybenzyl compounds **6**~**9** were deprotected by AlCl_3 and neutralized to give the sodium salts **10**~**13**.

Keywords □ 6-exomethylene penam, β -lactamase inhibitors

현재, β -lactam 항생제에 대한 내성균의 출현으로 기존 항생제의 약효가 감소하고 있으며, 일반적인 세균의 항생제에 대한 내성기전은 β -lactamase라는 효소를 내성균이 분비하여 항생제의 β -lactam ring을 가수분해하고 약효를 제거하는 것이다.¹⁾ 이 효소는 그람음성균, 그람양성균, actinomycetes, blue-green algae 등에서 발견되고 있고, plasmid 등을 통해서 다른 종의 세균으로 쉽게 내성 유전자를 전이시킬 수 있어서 과거에 β -lactam 항생제에 의하여 치료되었던 세균들이 점차적으로 내성을 나타내는 경향이 늘고 있다. 이러한 내성균 문제를 극복하는 방법으로 β -lactamase 효소에 안정한 항생제를 개발하는 방법이 있으나, 이들도 곧 새로운 β -lactamase 효소에 파괴되는 경향을 보여 주고 있다. 따라서, 내성균을 치료할 수 있는 보다 근본적인 방법은 β -lactamase 효소를 억제하는 β -lactamase 억제제를 개발하고, β -lactam 항생제와 병용 투여하여 β -lactam 항생제를 β -lactamase 효소로부터 보호하는 것이다. 이러한 β -lactamase 억제제로 clavulanic acid²⁾ **1a**, sulbactam³⁾ **1b** 및 tazobactam⁴⁾ **1c**가 개발되어서 임상에서 사용되고 있다.

최근 β -lactamase 억제제로 6-exomethylene penam 유도체들이 개발되고 있고⁵⁾ 특히, 6-triazole 링을 갖고있는 penem 화합

물 **2**(BRL-42715)^{6,7)}는 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 sulfone 구조와 **2**의 6-triazolylmethylene 구조를 결합시킨 6-exomethylene penam 유도체를 합성하였다.

실험방법

시약 및 기기

본 실험에서 사용된 시약들은 Aldrich사와 Fluka사의 것을 사용하였고, 각종 용매는 특급시약을 사용하였다. ¹H-NMR spectra는 JEOL JNM-EX 90A(90 MHz)와 Varian Gemini 2000(300 MHz)을 사용하여 얻었고, CDCl_3 의 경우 TMS(tetramethylsilane)를 내부 표준물질로 사용하였으며 DMSO-*d*₆의 경우 잔류하는 DMSO를 내부 표준물질로 사용하였다. TLC는 Merck silica gel 60 F₂₅₄를 사용하였고 Reverse TLC로는 Merck RP-18F_{254S}를 사용하였으며, UV Lamp로 spot을 확인하였다. 용점측정은 Buchi Melting point B-540을 사용하였고, IR spectra는 Jasco

*본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-820-5599 (팩스) 02-815-2199
(E-mail) yimcb@cau.ac.kr

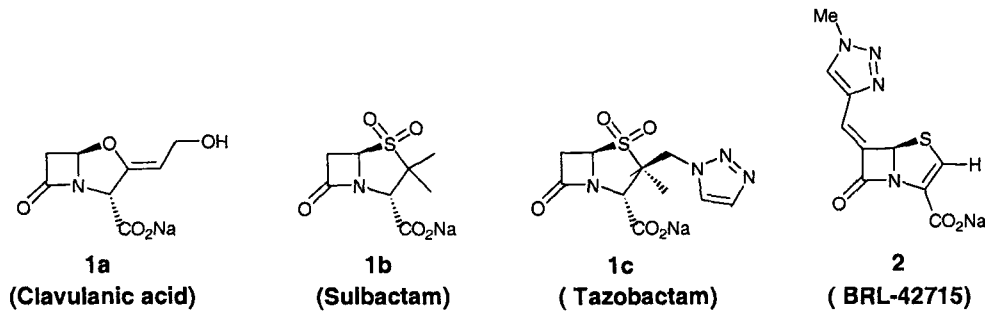


Fig. 1 - Structure of β -lactamase inhibitors.

FT/IR 300E를 사용하여 얻었다. Column chromatography는 silica gel(Merck type 9355, 230~400 mesh)을 사용하였고, 역상 column chromatography는 Comosil 75 C₁₈-OPN을 사용하였다.

1-[2-(6-Ethoxybenzothiazol-2-yl)thioethyl]-1,2,3-triazole-4-carbaldehyde (4)

1-(2-Hydroxyethyl)-1,2,3-triazole-4-carbaldehyde 3 18.8 g(89 mmol)을 무수 dichloromethane 250 ml에 녹인 용액에 triethylamine 12.3 ml를 가한 후, -15~-20°C로 냉각하고 argon gas에서 반응시킨다. 30분 후, trifluoromethanesulfonic anhydride 20.6 ml를 서서리 가하고 -15~-20°C에서 3시간 더 교반한다. 6-Ethoxy-2-mercaptobenzothiazole 18.8 g(89 mmol)과 triethylamine 12.3 ml를 녹인 dichloromethane 90 ml 용액을 상기 반응혼합액에 -15~-20°C에서 30분 동안에 적가한 후, 실온에서 하루 방치한다. 반응혼합물을 dichloromethane으로 추출하고 5% NaCl 용액으로 세척한 후, 무수 Na₂SO₄로 건조하고 감압 농축하여 얻은 생성물을 silica gel column으로 정제하여 화합물 4 13.9 g(47%)을 얻었다.

R_f = 0.54(dichloromethane:ethylacetate=4:1); mp: 106~107°C; IR(NaCl, neat) cm⁻¹; 2860, 2760, 1702, 1450; ¹H-NMR(CDCl₃) δ: 1.46 (t, 3H, J=6.9 Hz), 3.82(t, 2H, J=6.3 Hz), 4.09(q, 2H, J=6.9 Hz), 4.95(t, 2H, J=6.3 Hz), 7.24~7.76(m, 3H) 3.23(s, 1H), 10.13(s, 1H).

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

화합물 5 20 g(39.13 mmol)을 argon gas에서 무수 THF 300 ml에 녹인 용액에 CH₃MgBr 4.7 g의 ether용액을 가한 후, -78°C에서 15분간 교반한다. 화합물 4 13.1 g(39.13 mmol)을 dichloromethane 200 ml에 녹여서 반응액에 가하고, -78°C에서 10시간 반응한다. 10% NH₄Cl 용액을 가하여 반응을 정지시키고 ethylacetate로 추출하여 무수 Na₂SO₄로 건조시킨 후, 감압 농축하여 얻은 생성물을 silica gel column으로 정제하여 화합물 6 7.6 g(25%)을 얻었다.

R_f=0.48(hexane:ethylacetate=1:2); IR(NaCl, neat) cm⁻¹; 3245, 1804, 1752; ¹H-NMR(CDCl₃) δ: 1.22(s, 3H), 1.46 (t, 3H, J=6.9 Hz), 1.51(s, 3H), 3.74(t, 2H, J=6.6 Hz), 3.80(s, 3H), 4.09(q, 2H, J=7.2 Hz), 4.48 and 4.46(two s, 1H), 4.84(t, 2H, J=6.6 Hz), 5.06~5.48(m, 4H), 6.87~6.99(m, 2H), 7.02(dd, 1H, J₁=8.7 Hz, J₂=2.4 Hz), 7.22~7.30(m, 3H), 7.76(d, 1H, J=9 Hz), 7.84 and 7.91(two s, 1H).

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

화합물 6 7.0 g(9.12 mmol)을 무수 dichloromethane 90 ml에 녹인 용액에 pyridine 8.7 g과 acetic anhydride 9.5 g을 0°C, argon gas에서 가하고 실온에서 20시간 반응한다. 반응 혼합물을 dichloromethane로 추출하고 1% HCl, 5% NaHCO₃ 및 5% NaCl 용액으로 세척한 후, 무수 Na₂SO₄로 건조하고 감압 농축한다. 생성물을 silica gel column으로 정제하여 화합물 7 5.5 g(75%)을 얻었다.

R_f=0.31(hexane:ethylacetate=1:1); IR(NaCl, neat) cm⁻¹; 1806, 1514, 1448; ¹H-NMR(CDCl₃) δ: 1.21(s, 3H), 1.45 (t, 3H, J=6.9 Hz), 1.51(s, 3H), 2.10(s, 3H), 3.80(t, 2H, J=6.6 Hz), 3.82(s, 3H), 4.1(q, 2H, J=7.2 Hz), 4.51(s, 1H), 4.84~4.87(m, 2H), 5.04~5.57(m, 3H), 6.33 and 6.55(two s, 1H), 6.88~7.02(m, 2H), 7.03(d, 1H, J₁=8.7 Hz), 7.20~7.33(m, 3H), 7.77(d, 1H, J=9 Hz), 7.80(s, 1H).

p-Methoxybenzyl (6Z)-6-[1-[1-[2-(6-Ethoxybenzothiazol-2-yl)thioethyl]-1,2,3-triazol-4-yl]methylene]penicillanate 1,1-Dioxide (8)

화합물 7 4.5 g(5.56 mmol)을 CH₃CN 90 ml에 녹이고 acetic acid 1.4 g을 가한 후, Zn 분말 1.8 g을 넣고 0°C에서 3시간 반응하고 고체물질을 여과 제거한다. 반응액을 dichloromethane으로 추출하고 5% NaHCO₃으로 세척한 후, 무수 Na₂SO₄로 건조하고 농축하여 얻은 생성물을 silica gel column으로 정제하여 화합물 8 1.6 g(43%)을 얻었다.

$R_f=0.44$ (ethylacetate : hexane=2 : 1); IR(NaCl, neat) cm^{-1} : 1781, 1447, 1322; $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ : 1.31(s, 3H), 1.44 (t, 3H, $J=6.9$ Hz), 1.52(s, 3H), 3.75~3.82(m, 5H), 4.06(q, 2H, $J=6.9$ Hz), 4.43(s, 1H), 4.84(t, 2H, $J=6.2$ Hz), 5.27(d, 2H, $J=5.9$ Hz), 5.59(1s, 1H), 6.89~6.99(m, 2H), 7.01(d, 1H, $J=9$ Hz), 7.21~7.34(m, 4H), 7.74(d, 1H, $J=9$ Hz), 7.86(s, 1H).

***p*-Methoxybenzyl (6*Z*)-6-[1-[1-[2-(6-Ethoxybenzothiazol-2-yl) sulfonylethyl]-1,2,3-triazol-4-yl]methylene]penicillanate 1,1-Dioxide (9)**

화합물 8 0.8 g(1.14 mmol)을 dichloromethane 40 ml에 녹이고, *m*-chloroperbenzoic acid(*m*-CPBA) 0.8 g(11.4 mmol)을 넣고 상온에서 20시간 동안 반응시킨다. 반응액을 5% NaHCO_3 용액과 물로 세척하고 무수 Na_2SO_4 로 건조시킨 후, silica gel column으로 정제하여 화합물 9를 0.4 g(49%)을 얻었다.

$R_f=0.17$ (hexane : ethylacetate=1 : 1); IR(NaCl, neat) cm^{-1} : 1774, 1471, 1258; $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ : 1.31(s, 3H), 1.44 (t, 3H, $J=6.9$ Hz), 1.52(s, 3H), 3.83(s, 3H), 4.09~4.21(m, 4H, $J=6.9$ Hz), 4.43(s, 1H), 4.98(t, 2H, $J=6.3$ Hz), 5.12~5.28(m, 2H), 5.48(1s, 1H), 6.89~6.93(m, 2H), 7.12(s, 1H), 7.19~7.43(m, 4H), 7.86~8.10(m, 2H).

Sodium 6-Bromo-6-[1-hydroxy-1-[1-[2-(6-ethoxybenzothiazol-2-yl)thioethyl]-1,2,3-triazol-4-yl]methyl]penicillanate 1,1-Dioxide (10)

화합물 6 0.37 g(0.48 mmol)을 무수 dichloromethane 10 ml과 anisole 5 ml에 녹여 N_2 gas에서 -40°C 로 냉각하고, 무수 AlCl_3 0.19 g을 넣고 반응시킨다. 1시간 후, 물을 넣어 반응을 중지시키고 0.1 N NaOH 용액으로 pH를 7.0으로 조절한다. 수층을 역상 column으로 정제하여 얻은 용액을 동결 건조하여 화합물 10 0.21 g(65%)을 얻었다.

$R_f=0.52$ (water : acetonitrile=1 : 1); IR(Nujol) cm^{-1} : 1773; $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-}d_6)$ δ : 1.31(s, 3H), 1.35 (t, 3H, $J=6.6$ Hz), 1.46(s, 3H), 3.79(s, 1H), 3.90(t, 2H, $J=6.6$ Hz), 4.07(q, 2H, $J=6.9$ Hz), 4.93(t, 2H, $J=6.6$ Hz), 5.28(s, 1H), 5.41 and 5.56 (two s, 1H), 7.07(dd, 1H, $J_1=8.7$ Hz, $J_2=2.4$ Hz), 7.60(d, 1H, $J=2.7$ Hz), 7.74(d, 1H, $J=8.7$ Hz), 8.95(s, 1H).

위와 같은 방법으로 PMB ester 화합물인 7, 8, 9를 원료로 사용하여 화합물 11, 12, 13을 합성하였다.

Sodium 6-Bromo-6-[1-acetoxy-1-[1-[2-(6-ethoxybenzothiazol-2-yl)thioethyl]-1,2,3-triazol-4-yl]methyl]penicillanate 1,1-Dioxide (11)

화합물 7 0.34 g(0.42 mmol)을 원료로 하여 화합물 10과 동일

한 방법으로 실험하여 화합물 11 0.14 g(47%)을 얻었다.

$R_f=0.40$ (water : acetonitrile=1 : 1); IR(Nujol) cm^{-1} : 1780; $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-}d_6)$ δ : 1.30(s, 3H), 1.35 (t, 3H, $J=6.6$ Hz), 1.46(s, 3H), 2.16(s, 3H), 3.84(s, 1H), 3.87(m, 2H), 4.05(q, 2H, $J=6.9$ Hz), 4.83(t, 2H, $J=6.3$ Hz), 5.22(s, 1H), 6.29 and 6.45 (two s, 1H), 7.06(dd, 1H, $J_1=8.7$ Hz, $J_2=2.4$ Hz), 7.60(d, 1H, $J=2.1$ Hz), 7.78(d, 1H, $J=9$ Hz), 8.46 and 8.48(two s, 1H).

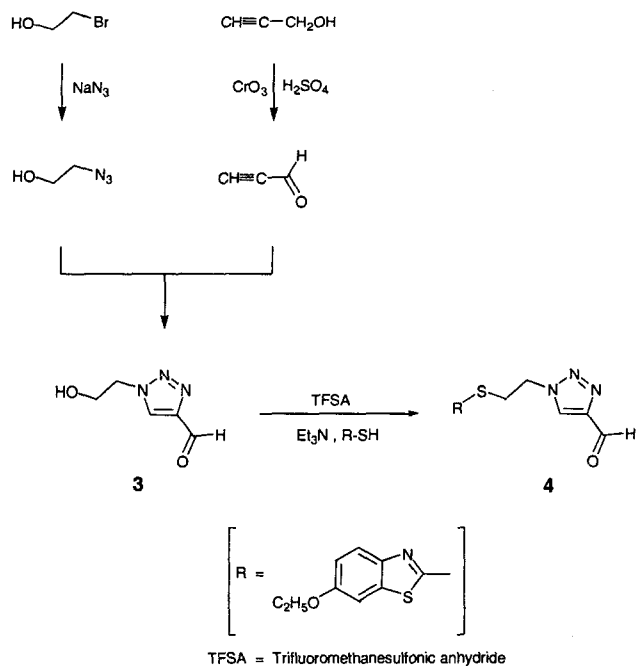
Sodium (6*Z*)-6-[1-[1-[2-(6-ethoxybenzothiazol-2-yl)thioethyl]-1,2,3-triazol-4-yl]methylene]penicillanate 1,1-Dioxide (12)

화합물 8 0.33 g(0.49 mmol)을 원료로 하여 화합물 10과 동일한 방법으로 실험하여 화합물 12 0.16 g(57%)을 얻었다.

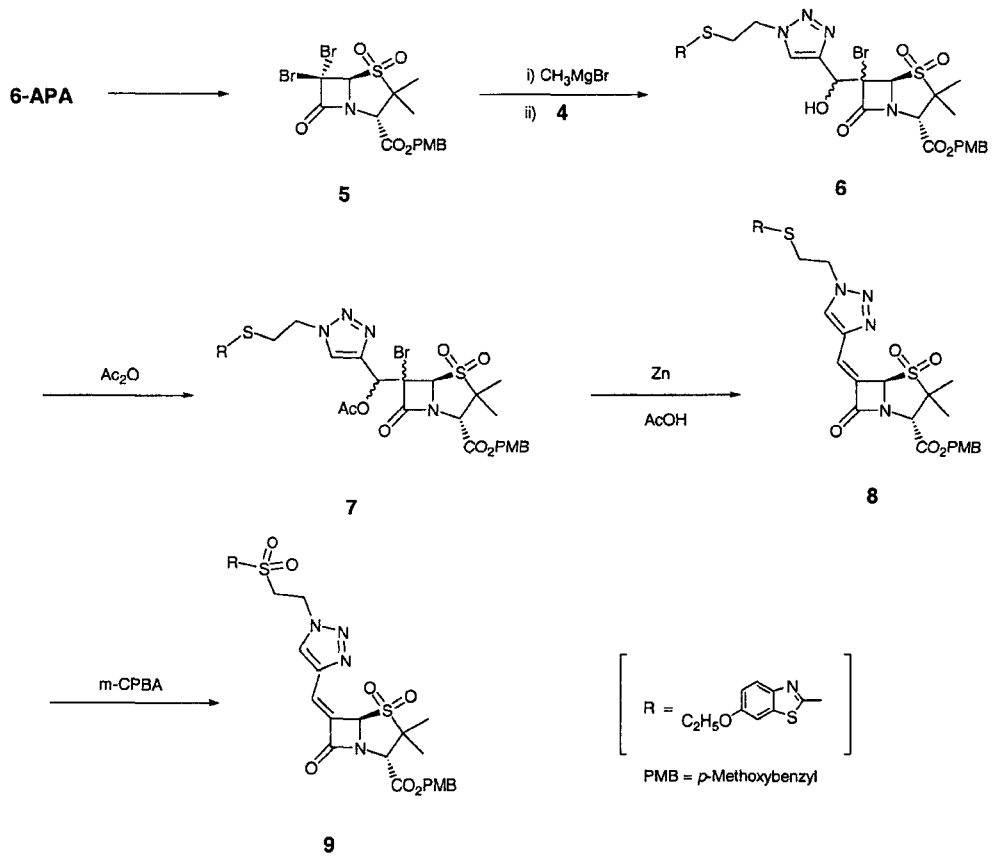
$R_f=0.48$ (water : acetonitrile=1 : 1); IR(Nujol) cm^{-1} : 1773; $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-}d_6)$ δ : 1.31(s, 3H), 1.35 (t, 3H, $J=6.9$ Hz), 1.46(s, 3H), 3.82(s, 1H), 3.86(t, 2H, $J=6.3$ Hz), 4.08(q, 2H, $J=6.9$ Hz), 4.88(t, 2H, $J=6.3$ Hz), 5.76(d, 1H, $J=1.2$ Hz), 7.06(dd, 1H, $J_1=9$ Hz, $J_2=2.4$ Hz), 7.37(d, 1H, $J=1.2$ Hz), 7.61(d, 1H, $J=2.4$ Hz), 7.78(d, 1H, $J=9$ Hz), 8.45 (s, 1H).

Sodium (6*Z*)-6-[1-[1-[2-(6-ethoxybenzothiazol-2-yl) sulfonylethyl]-1,2,3-triazol-4-yl]methylene]penicillanate 1,1-Dioxide (13)

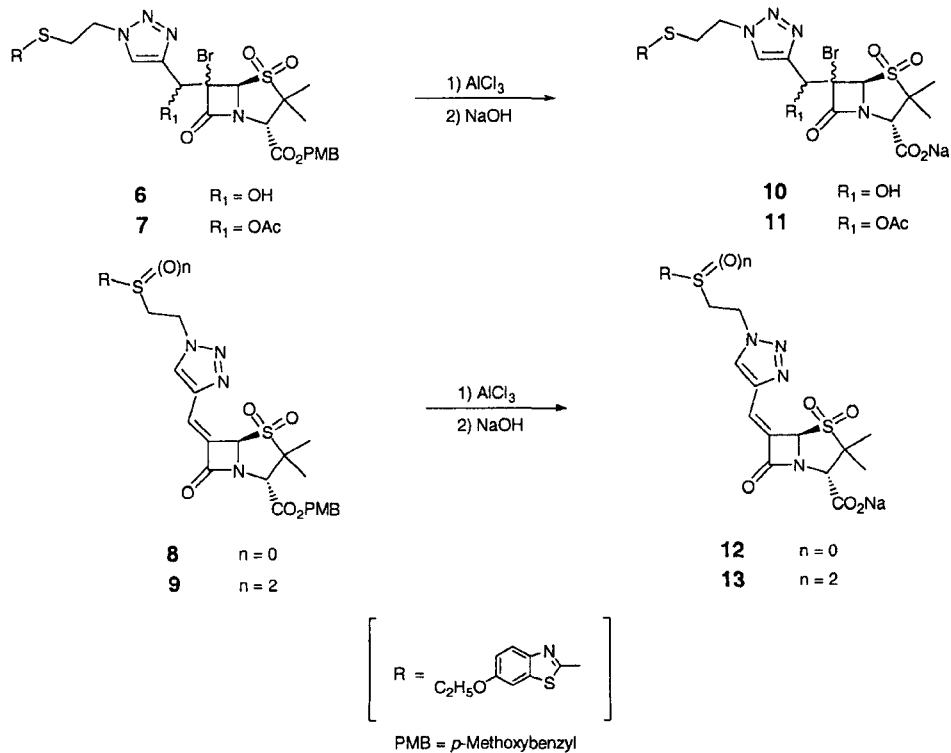
화합물 9 0.17 g(0.24 mmol)을 원료로 하여 화합물 10과 동일



Scheme 1 – Synthesis of 1-substituted triazole-4-carbaldehyde compound.



Scheme 2 – Synthesis of 6-exomethylene penam derivatives.



Scheme 3 – Synthesis of 6-exomethylene penam sodium salts.

한 방법으로 합성하여 화합물 13 0.11 g(76%)을 얻었다.

$R_f=0.58$ (water : acetonitrile=1 : 1); IR(Nujol) cm^{-1} ; 1786; $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-}d_6)$ δ : 1.33(s, 3H), 1.36(t, 3H, $J=6.9$ Hz), 1.44(s, 3H), 3.83(s, 1H), 4.01~4.54(m, 4H), 4.96(t, 2H, $J=6.9$ Hz), 5.66(s, 1H), 7.27~7.38(m, 2H), 7.69~7.86(m, 2H), 8.39 (s, 1H).

결과 및 고찰

이미 보고된 방법을 이용하여 sodium azide와 2-bromoethanol을 반응시켜 2-azidoethanol을 합성하고,¹⁰⁾ propargyl alcohol을 CrO_3 로 산화시켜 propargyl aldehyde를 만들었다.¹¹⁾ 2-azidoethanol과 propargyl aldehyde를 반응시켜 triazole-4-carboxaldehyde 3을 합성하였고,⁸⁾ trifluoromethane sulfonic anhydride (TFSA)로 처리하여 trifluorosulfonyl 유도체로 만든 후, thiol 화합물과 반응시켜 2-치환 thioethyl triazole 화합물 4를 47%의 수득율로 합성하였다(Scheme 1).

6,6-Dibromopenam 화합물 5를 CH_3MgBr 로 처리한 후, triazole carbaldehyde 화합물 4와 반응하여 hydroxy 화합물 6을 25%의 수득율로 얻었고, 화합물 6을 acetic anhydride로 처리하여 acetoxy 화합물 7을 75%의 수득율로 얻었다. 화합물 7을 acetic acid와 Zn으로 처리하여 43%의 수득율로 penam sulfone의 6번 위치에 exomethylene의 2중 결합을 도입하였다(Scheme 2).

p-Methoxy ester 화합물 6~9은 AlCl_3 로 처리하여 carboxylic acid 화합물로 만든 후, 0.1N NaOH 용액을 사용하여 pH를 7.0으로 조절하고 sodium salt 용액을 만들었다(Scheme 3). β -Lactam 화합물은 염기에 약하기 때문에 pH 조절에서 0.1N NaOH 용액으로 천천히 적정하였다. 이렇게 얻은 sodium salt 용액을 동결건조하고 물과 CH_3CN 을 이용하여 역상column으로 정제 한 후, 다시 동결 건조하여 화합물 10~13을 47~76%의 수득율로 합성하였다.

감사의 말씀

본 연구는 2003년도 중앙대학교 학술연구비의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1) Neu, H. C. : The crisis in Antibiotic Resistance. *Science*. **257**,

1064 (1992).

- 2) Reading, C. and Cole, M. : Clavulanic acid : A 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, a 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)methyl-enepenicillanic 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) penems, 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) Boyer, J. H. and Hamer, J. : The acid-catalyzed reaction of alkyl azides upon carbonyl compounds. *J. Am. Chem. Soc.* **77**, 951 (1955).
- 11) Sauer, J. C. : In Organic syntheses Collective volume IV, Robjohn, John Wiley and Sons, Inc., New York, 813 (1963).