약학회지 제 50 권 제 6 호 393~397 (2006)
Yakhak Hoeji Vol. 50, No. 6

藥學會誌

3치환 7-할로세팔로스폴린 유도체의 합성

구영준 · 송진원 · 임철부 · 임채욱#
중앙대학교 약학대학 의약화학 교실
(Received November 16, 2006; Revised December 7, 2006)

Synthesis of 3-substituted 7-Halocephalosporanate Derivatives

Young Jun Koo, Jin Won Song, Cul Bu Yim and Chaeuk Im#
Division of Medicinal Chemistry, College of Pharmacy, Chung-ang University, Seoul 156-756, Korea

Abstract — The synthesis of new 3-substituted 7-halocephalosporanates was described. 7-ACA was reacted with thiols at pH 6.5~6.8 to afford the 3-substituted 7-ACA (**1**), which was treated with diphenyldiazomethane to give diphenylmethyl 7-aminocephalosporanate (**2**). The Halogenation of 7-aminocephalosporanate (**2**) with $NaNO_2$, KBr, and H_2SO_4 gave 7-bromocephalosporanate (**3**) and with $NaNO_2$, HCl gave 7-chlorocephalosporanate (**4**). Diphenylmethyl cephalosporanate (**2~4**) were deprotected by $AlCl_3$ in anisole and neutralized to give the sodium cephalosporanate (**5~7**).

Keywords □ 7-halocephalosporanate, β-lactamase inhibitors

β-Lactam 항생제는 항균력이 우수하고 부작용이 적은 장점이 있으나, 내성균의 출현이 증가하여 내성균에 유용한 새로운 항생제의 개발이 요구되고 있다. 내성균 문제를 극복하는 방법으로 β-lactamase 효소에 안정한 항생제를 개발하는 방법이 있으나, 이들도 곧 새로운 β-lactamase 효소에 파괴되는 경향을 보여주고 있다. 내성균을 치료할 수 있는 보다 근본적인 방법은 β-lactamase 효소를 파괴하는 β-lactamase 억제제를 개발하고, β-lactam 항생제와 병용 투여하여 β-lactam항생제를 β-lactamase 효소로부터 보호하는 것이다. β-Lactamase 억제제는 β-lactamase 효소와 acyl-enzyme complex를 형성하여 비가역적으로 효소의 활성을 소실시키는 suicide inhibitor이다. 이러한 β-lactamase 억제제로 clavulanic acid,[1,2] sulbactam[3] 및 tazobactam[4]이 개발되어 임상에서 사용되고 있다. Clavulanic acid는 augmentin (amoxicillin+clavulanic acid)과 timentin(ticarcillin+clavulanic acid)으로, sulbactam은 unasin(sulbactam+ampicillin)과 sulferazone(sulbactam+cepoferazone)으로, tazobactam은 tazocine (tazobactam+piperacillin)으로 각각 제품화되어 사용하고 있다.[5]

Cephalosporin계 항생제가 널리 사용되면서 이에 대한 내성균이 증가하고 있어서 cephalosporin구조를 갖는 β-lactamase inhibitor의 개발이 필요하게 되었다. 그러나, penicillin계열에 대해서는 최근까지 많은 연구가 진행되었으나, cephalosporin계열의 화합물에 대해서는 연구가 많이 진행되지는 않았다. 일부 논문에서 cephalosporin계열의 β-lactamase 억제제로 cephalosporin의 C-3번 위치에 cyano기,[6] triazol기[7] 등이 도입된 화합물들[8,9]과 C-7번 위치에 acetyl기,[10] vinylidene기,[11] iodine기[12] 등이 도입된 화합물들[13]이 합성되었으며, cephalosporinase에 억제 효과가 있다고 보고되고 있다. 이들 화합물 중에서 6β-Iodopenicillin 또는 7β-Iodocephalosporin 화합물에 주목하고, 본 연구자는 보다 우수한 억제활성을 갖는 신물질을 얻기 위하여 cephalosporin의 3번 위치에 heterocyclic ring을 갖고 있고, 7번 위치에 halogen 원소를 함유한 3치환 7-halocephalosporin화합물을 합성하였다.

실험 방법

시약 및 기기

본 실험에서 사용된 시약들은 Aldrich사와 Fluka사의 것을 사용하였고, 각종 용매는 특급시약을 사용하였다. TLC는 Merck silica gel 60 F_{254}(thickness 0.2 μm)를 사용하였고, reverse TLC에는 Merck RP-18F_{254S}(thickness 0.25 mm)를 사용하였다.

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-820-5603 (팩스) 02-815-2199
(E-mail) chaeukim@cau.ac.kr

Spot는 UV Lamp로 254 nm의 파장에서 확인하였다. Column chromatography는 silica gel 60(Merck type 9355, 230~400 mesh)을 이용하였고, reverse column chromatography는 Comosil 75 C_{18}-OPN(42~105 μ, Nacalaitesque, Jaspan)을 사용하였다. ^{1}H-NMR spectra는 Varian Gemini 2000(300 MHz)을 사용하여 얻었고, TMS(tetramethylsilane)를 내부 표준물질로 사용하였다. IR spectra는 Jasco FT/IR 300E를 사용하여 얻었다.

(6R,7R)-7-Amino-3-[[(benzoxazol-2-yl)thio]-methyl]-3-cephem-4-carboxylic acid(1a) – 증류수 200 ml에 $NaHCO_3$ 7.0 g과 7-aminocephalosporanic acid(7-ACA) 10.0 g(36.7 mmol)을 녹이고, 여기에 2-mercapto benzoxazole 6.7 g(44.04 mmol)과 acetone 200 ml를 넣고 pH를 6.5~6.8로 맞춘 후, oil bath에서 약 6시간 동안 60~65°C를 유지하면서 가열하였다. 상온으로 냉각하고 1 N-HCl으로 반응액을 pH 3으로 조절한 후, 생성된 침전물을 여과하고 24시간 동안 건조하여 황색의 분말 **1a** 9.0 g(79%)를 얻었다.

R_f=0.61(acetonitrile : H_2O=1 : 2); IR(KBr) cm^{-1}; 1805, 1543, 1498; ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ : 3.42(d, 1H, *J*=18 Hz), 3.64(d, 1H, *J*=17.7 Hz), 4.12(d, 1H, *J*=13 Hz), 4.44(d, 1H, *J*=13, 2Hz), 4.65(d, 1H, *J*=5 Hz), 4.85(d, 1H, *J*=5.1 Hz), 7.32~7.73 (m, 4 H).

화합물 **1a**와 동일한 방법으로 7-ACA와 thiol 화합물을 반응시켜서 화합물 **1b**, **1c**, **1d**를 합성하였다.

(6R,7R)-7-Amino-3-[[(1-methyltetrazol-5-yl)thio]-methyl]-3-cephem-4-carboxylic acid(1b) – Yield : 84%; R_f=0.46 (acetonitrile : H_2O=1 : 2); IR(KBr) cm^{-1}; 1801, 1700, 1342; ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ : 3.81(s, 3H), 3.75(d, 1H, *J*=6.5 Hz), 4.12 (d, 1H, *J*=6.9 Hz), 4.21(d, 1H, *J*=13.5 Hz), 4.46(d, 1H, *J*=13.5 Hz), 4.83(d, 1H, *J*=5.1 Hz), 5.01(d, 1H, *J*=5.2 Hz).

(6R,7R)-7-Amino-3-[[(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)thio]-methyl]-3-cephem-4-carboxylic acid(1c) – Yield : 40%; R_f= 0.25(ethylacetate : methano=1 : 1); IR(KBr) cm^{-1} : 1772, 1724, 1365; ^{1}H-NMR(DMSO-d_6), δ : 2.69(3H, s), 3.40 and 3.53 (2H, 2d, *J*=17.7 Hz), 4.39 and 4.54(2H, 2d, *J*=12.3 Hz), 4.68 (1H, d, *J*=4.2 Hz), 4.92(1H, d, *J*=5.1 Hz).

(6R,7R)-7-Amino-3-[[(6-ethoxy-benzothiazol-2-yl)thio]-methyl]-3-cephem-4-carboxylic acid(1d) – Yield : 40%; R_f= 0.55(ethylacetate : methanol=1 : 1); IR(KBr) cm^{-1}; 1774, 1720, 1598; ^{1}H-NMR(DMSO-d_6), δ : 1.35(3H, t, 9.4 Hz), 3.44 and 3.58(2H, 2d, *J*=17.4 Hz), 4.07(2H, q) 4.35 and 4.82(2H, 2d, *J*=11.7 Hz), 4.58(1H, m), 4.84(1H, d, *J*=5 Hz), 7.03(1H, d, *J*=9 Hz), 7.56(1H, d, *J*=0.3 Hz), 7.73(1H, d, J=8.7 Hz).

Diphenylmethyl(6R,7R)-7-amino-3-[[(benzoxazol-2-yl)thio]-methyl]-3-cephem-4-carboxylate(2a) – 3-Cephem-4-carboxylic acid **1a** 5.0 g(16.3 mmol)을 methanol 40 ml에 현탁시킨 후, diphenyldiazomethane 16 g(81.5 mmol)을 dichloromethane 50 ml에 녹인 용액과 상온에서 24시간 반응시켰다. 반응액을 여과하여 얻은 여액을 농축하고, silicalgel column으로 정제하여 미황색의 화합물 **2a** 6.2 g(71%)를 얻었다.

R_f=0.54(ethyl acetate : hexane=2 : 1); IR(KBr) cm^{-1}; 1774, 1718, 1498; ^{1}H-NMR($CDCl_3$) δ : 3.56(d, 1H, *J*=18.6 Hz), 3.69 (d, 1H, *J*=18.6 Hz), 4.08(d, 1H, *J*=13.5 Hz), 4.47(d, 1H, *J*= 13.8 Hz), 4.65(d, 1H, *J*=5.1 Hz), 4.81(d, 1H, *J*=5.1 Hz), 6.97 (s, 1H), 7.20~7.50 (m, 14 H).

Carboxylic acid 화합물 **1b**, **1c**, **1d**를 사용하여 위의 합성방법에 따라 실험하여 diphenylmethylester 화합물 **2b**, **2c**, **2d**를 얻었다.

Diphenylmethyl(6R,7R)-7-amino-3-[[(1-methyltetrazol-5-yl)thio]-methyl]-3-cephem-4-carboxylate(2b) – Yield: 62%; R_f=0.42(hexane : ethylacetate : dicloromethene=1 : 2 : 1); IR(KBr) cm^{-1}; 1772, 1724, 1386; ^{1}H-NMR($CDCl_3$) δ : 3.83(s, 3H), 3.71(d, 1H, *J*=6.6 Hz), 3.85(d, 1H, *J*=7.5 Hz), 4.17(d, 1H, *J*=13.5 Hz), 4.39(d, 1H, *J*=13.2 Hz), 4.67(d, 1H, *J*=5.1 Hz). 4.90(d, 1H, *J*=5.4 Hz), 6.89(s, 1H), 7.25~7.43(m, 10H).

Diphenylmethyl(6R,7R)-7-amino-3-[[(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)thio]-methyl]-3-cephem-4-carboxylate(2c) – Yield : 35%; R_f=0.22(ethyl acetate : hexane=2 : 1); IR(KBr) cm^{-1}; 1772, 1724, 1365; ^{1}H-NMR($CDCl_3$), δ : 2.69(3H, s), 3.60 and 3.73(2H, 2d, *J*=18.6 Hz), 4.10 and 4.51(2H, 2d, *J*= 13.7 Hz), 4.77(1H, d, *J*=5.1 Hz), 4.91(1H, d, *J*=5.1 Hz), 6.90 (1H, s), 7.24~7.43 (10H, m).

Diphenylmethyl(6R,7R)-7-amino-3-[[(6-ethoxy-benzothiazol-2-yl)thio]-methyl]-3-cephem-4-carboxylate(2d) – Yield : 36%; R_f=0.53(ethyl acetate : hexane=2 : 1); IR(KBr) cm^{-1}; 1774, 1720, 1598; ^{1}H-NMR($CDCl_3$), δ : 1.44(3H, t, 9.4 Hz), 3.61 and 3.75(2H, 2d, *J*=17.4 Hz), 4.07(2H, q, *J*=4.07) 4.13 and 4.60(2H, 2d, *J*=12.9 Hz), 4.78(1H, m), 4.94(1H, d, *J*=5.1 Hz), 6.93~6.97(1H, m), 7.19~7.49(12H, m, 2Ph), 7.624 and 7.654(1H, 2d, J_1=9 Hz, J_2=0.3 Hz).

Diphenylmethyl(6R,7S)-3-[[(benzoxazol-2-yl)thio]-methyl]-7-bromo-3-cephem-4-carboxylate(3a) – 7-Amino-cephalosporanate **2a** 5.0 g(9.9 mmol)을 $CHCl_3$ 30 ml와 ethanol 25 ml에 녹이고, KBr 6.0 g(49.5 mmol)을 H_2O 20 ml에 녹여 반응액에 가한 후, 2.5 N H_2SO_4 50 ml과 $NaNO_2$ 1.0 g(14.8 mmol)을 넣고 ice bath에서 4시간 동안 교반한다. 반응액에서 유기층을 dichloromethane으로 추출하고 $NaSO_4$로 건조한 후, silicagel column으로 분리하여 7-bromocephalosporanate **3a** 3.1 g(55%)을 얻었다.

R_f=0.41(hexane : ethylacetate=2 : 1); IR(KBr) cm^{-1}; 1792, 1724, 1452; ^{1}H-NMR($CDCl_3$) δ : 3.62(d, 1H, *J*=18 Hz), 3.74 (d, 1H, *J*=18 Hz), 4.16(d, 1H, *J*=14.1 Hz), 4.53(d, 1H, *J*= 13.5 Hz), 4.66(d, 1H, *J*=1.8 Hz), 4.81(d, 1H, *J*=1.8 Hz), 6.96 (s, 1H), 7.20~7.50(m, 14 H).

위와 같은 방법으로 7-amino 화합물 **2b, 2c, 2d**를 원료로 사용하여 7-bromo 화합물 **3b, 3c, 3d**를 얻었다.

Diphenylmethyl(6R,7S)-3-[[(1-methyltetrazol-5-yl)thio]-methyl]-7-bromo-3-cephem-4-carboxylate (3b) – Yield : 71%; R_f=0.53(hexane : ethylacetae=2 : 1); IR(KBr) cm^{-1}; 1786, 1734, 1508; ^{1}H-NMR($CDCl_3$) δ : 3.84(s, 3H), 3.76(d, 1H, *J*=6.4 Hz), 3.86(d, 1H, *J*=7.2 Hz), 4.21(d, 1H, *J*=13.5 Hz), 4.42(d, 1H, *J*=13.5 Hz), 4.66(d, 1H, *J*=2.7 Hz), 4.82(d, 1H, *J*=3.1 Hz), 6.89(s, 1H), 7.26~7.48(m, 10H).

Diphenylmethyl(6R,7S)-3-[[(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)thio]-methyl]-7-bromo-3-cephem-4-carboxylate(3c) – Yield : 55%; R_f=0.34(hexane : ethylacetate=1 : 2); IR(KBr) cm^{-1}; 1787, 1724, 1373; ^{1}H-NMR($CDCl_3$), δ : 2.70(3H, s), 3.66 and 3.79(2H, 2d, *J*=18.3 Hz), 4.17 and 4.55(2H, 2d, *J*= 13.7 Hz), 4.66(1H, d, *J*=1.5 Hz), 4.82(1H, d, *J*=1.8 Hz), 6.91 (1H, s), 7.25~7.47(10H, m).

Diphenylmethyl(6R,7S)-3-[[(6-ethoxy-benzothiazol-2-yl)thio]-methyl]-7-bromo-3-cephem-4-carboxylate(3d) – Yield : 48%; R_f=0.50(ethyl acetate : hexane=1 : 2); IR(KBr) cm^{-1}; 1787, 1720, 1448; ^{1}H-NMR($CDCl_3$), δ : 1.45(3H, t), 3.61 and 3.75(2H, 2d, *J*=17.4 Hz), 4.06(2H, m), 4.11 and 4.66(2H, 2d, *J*=13.7 Hz), 4.66(1H, d, *J*=1.8 Hz), 4.82(1H, d, *J*=1.8 Hz), 6.94~6.95(1H, m), 7.14~7.47(12H, m), 7.59 and 7.62(1H, 2d, J_1=9 Hz, J_2=0.3 Hz).

Diphenylmethyl(6R,7S)-3-[[(benzoxazol-2-yl)thio]-methyl]-7-chloro-3-cephem-4-carboxylate(4a) – 7-Aminocephalosporanate **2a** 5.0 g(9.9 mmol)을 $CHCl_3$ 30 m*l*와 ethanol 25 m*l*에 녹이고, c-HCl(37%) 10 m*l*를 H_2O 10 m*l*로 희석한 용액을 반응액에 20분간 서서히 넣어준 후, $NaNO_2$ 1.2 g(14.8 mmol)을 넣고 ice bath에서 4시간 동안 교반한다. 반응혼합물을 dichloromethane으로 추출하고 $NaSO_4$로 건조하여 농축한 후, silicagel column 정제하여 7-chlorocephalosporanate **4a** 2.7 g(46%)를 얻었다.

R_f=0.38(hexane : ethylacetate=2 : 1); IR(KBr) cm^{-1}; 1793, 1718, 1498; ^{1}H-NMR($CDCl_3$) δ : 3.59(d, 1H, *J*=18 Hz), 3.75 (d, 1H, *J*=18.3 Hz), 4.13(d, 1H, *J*=15 Hz), 4.51(d, 1H, *J*= 13.8 Hz), 4.63(d, 1H, *J*=1.5 Hz), 4.73(d, 1H, *J*=1.5 Hz), 6.97 (s, 1H), 7.20~7.50(m, 14 H).

7-Amino 화합물 **2b, 2c, 2d**를 이용하여 **4a**를 합성한 방법으로 7-chloro 화합물 **4b, 4c, 4d**를 합성하였다.

Diphenylmethyl(6R,7S)-3-[[(1-methyltetrazol-5-yl)thio]-methyl]-7-chloro-3-cephem-4-carboxylate(4b) – Yield : 66%; R_f=0.51(ethyl acetate : hexane=1 : 1); IR(KBr) cm^{-1}; 1786, 1764, 1375; ^{1}H-NMR($CDCl_3$) δ : 3.85(s, 3H), 3.75(d, 1H, *J*= 7.2 Hz), 3.85(d, 1H, *J*=7.5 Hz), 4.21(d, 1H, *J*=13.2 Hz), 4.42 (d, 1H, *J*=13.5 Hz), 4.65(d, 1H, *J*=1.7 Hz), 4.76(d, 1H, J=1.5 Hz), 6.91(s, 1H), 7.26~7.48(m, 10H).

Diphenylmethyl(6R,7S)-3-[[(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)thio]-methyl]-7-chloro-3 cephem4-carboxylate(4c) – Yield : 54%; R_f=0.35(hexane : ethylacetate=2 : 1); IR(KBr) cm^{-1}; 1789, 1720. 1373; ^{1}H-NMR($CDCl_3$), δ : 2.70(3H, s), 3.64 and 3.77(2H, 2d, *J*=18.2 Hz), 4.16 and 4.55(2H, 2d, *J*=13.7 Hz), 4.66(1H, d, *J*=1.8 Hz), 4.76(1H, d, *J*=1.5 Hz), 6.93(1H, s), 7.26~7.47(10H).

Diphenylmethyl(6R,7S)-3-[[(6-ethoxy-benzothiazol-2-yl)thio]-methyl]-7-chloro-3-cephem-4-carboxylate(4d) – Yield : 46%; R_f=0.50(hexane : ethylacetate=2 : 1); IR(KBr) cm^{-1}; 1793, 1720, 1448; ^{1}H-NMR($CDCl_3$), δ : 1.44(3H, m), 3.60 and 3.74(2H, 2d, *J*=17.4 Hz), 4.05(2H, m), 4.17 and 4.65(2H, 2d, *J*=13.7), 4.67(1H, d, *J*=1.8 Hz), 4.76(1H, D, *J*= 1.8 Hz), 6.96(1H, d), 7.14~7.44(12H, m), 7.59 and 7.62(1H, 2d).

Sodium(6R,7R)-7-amino-3-[[(benzoxazol-2-yl)thio]-methyl]-3-cephem-4-carboxylate(5a) – Diphenylmethyl 3-cephem-4-carboxylate **2a** 0.3 g(0.61 mmol)을 무수 dichloromethane 10 m*l*와 무수 anisole 0.66 m*l*(6.1 mmol)에 용해한 후, -78°C에서 $AlCl_3$ 0.22 g(1.5 mmol)을 가하고 30분간 교반한다. $NaHCO_3$ 0.5 g을 증류수 20 m*l*에 녹인 용액과 ethylacetate 20 m*l*을 반응액에 넣고 5분간 교반한 후, 반응액을 여과하여 침전물을 제거한다. 반응 혼합물에서 물층을 분리하여 2 m*l* 정도로 농축한 후, reverse column으로 정제하고 동결 건조하여 sodium 3-cephem-4-carboxylate **5a** 0.15 g(72%)을 얻었다.

R_f=0.52(H_2O : acetonitrile=1 : 2); ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ : 3.56(d, 1H, *J*=19.8 Hz), 3.75(d, 1H, *J*=19.5 Hz), 4.14(d, 1H, *J*=1.5 Hz), 4.61(d, 1H, *J*=1.5 Hz), 4.74(d, 1H, *J*=5.6 Hz), 4.91(d, 1H, *J*=5.7 Hz), 7.27~7.73(m, 4 H).

Diphenylmethylester 화합물 **2b, 2c, 2d, 3a, 3b, 3c, 3d, 4a, 4b, 4c, 4d**를 원료로 사용하고, 화합물 **5a**와 동일한 방법으로 보호기를 제거하여 sodium carboxylate 화합물 **5b, 5c, 5d, 6a, 6b, 6c, 6d, 7a, 7b, 7c, 7d**를 합성하였다.

Sodium(6R,7R)-7-amino-3-[[(1-methyltetrazol-5-yl)thio]-methyl]-3-cephem-4-carboxylate(5b) – Yield : 76%; R_f=0.48 (H_2O : acetonitrile=1 : 1); ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ : 3.35(d, 1H, *J*=6.8 Hz), 3.41(d, 1H, *J*=6.8 Hz), 3.92(s, 3H), 4.29(d, 1H,

J=12.9 Hz), 4.39(d, 1H, J=12.9 Hz), 4.63(d, 1H, J=5.1 Hz), 4.86(d, 1H, J=5.1 Hz).

Sodium(6R,7R)-7-amino-3-[[(5-methyl-1,3,4-thiadiazole-2-yl)thio]-methyl]-3-cephem-4-carboxylate(5c) – Yield : 61%; R_f=0.70(H_2O : acetonitrile=1 : 2); ^{1}H-NMR(DMSO-d_6), δ : 2.69(3H, S), 3.40 and 3.53(2H, 2d, J=17.7 Hz), 4.39 and 4.54 (2H, 2d, J=12.3 Hz), 4.68(1H, d, J=4.2 Hz), 4.92(1H, d, J= 5.1 Hz).

Sodium(6R,7R)-7-amino-3-[[(6-ethoxybenzothiazol-2-yl)thio]-methyl]-3-cephem-4-carboxylate(5d) – Yield : 45%; R_f=0.43(H_2O : acetonitrile=1 : 2); ^{1}H-NMR(DMSO-d_6), δ : 1.35(3H, t, 9.4 Hz), 3.44 and 3.58(2H, 2d, J=17.4 Hz), 4.07 (2H, q) 4.35 and 4.82(2H, 2d, J=11.7 Hz), 4.58(1H, m), 4.84 (1H, d, J=5 Hz), 7.03(1H, d, J=9 Hz), 7.56(1H, d, J=0.3 Hz), 7.73(1H, d, J=8.7 Hz).

Sodium(6R,7S)-3-[[(benzoxazol-2-yl)thio]-methyl]-7-bromo-3-cephem-4-carboxylate(6a) – Yield : 73%; R_f=0.46 (H_2O : acetonitrile=1 : 1); ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ : 3.57(d, 1H, J=18 Hz), 3.75(d, 1H, J=18 Hz), 4.40(d, 1H, J=12.9 Hz), 4.51(d, 1H, J=12 Hz), 5.02(d, 1H, J=1.2 Hz), 5.35(d, 1H, J= 1.2 Hz), 7.32~7.73(m, 4 H).

Sodium(6R,7S)-3-[[(1-methyltetrazol-5-yl)thio]-methyl]-7-bromo-3-cephem-4-carboxylate(6b) – Yield : 72%; R_f=0.61 (H_2O : acetonitrile=1 : 2); ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ : 3.37(d, 1H, J=6.9 Hz), 3.42(d, 1H, J=6.9 Hz), 3.93(s, 3H), 4.18(d, 1H, J=13.9 Hz), 4.42(d, 1H, J=13.5 Hz), 4.98(d, 1H, J=1.8 Hz), 5.33(d, 1H, J=1.8 Hz).

Sodium(6R,7S)-3-[[(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)thio]-methyl]-7-bromo-3-cephem-4-carboxylate(6c) – Yield : 62%; R_f=0.75(H_2O : acetonitrile=1 : 2); ^{1}H-NMR(DMSO-d_6), δ : 2.69(3H, s), 3.47 and 3.71(2H, 2d, J=17.7 Hz), 4.35 and 4.55 (2H, 2d, J=12.5 Hz), 5.06(1H, d, J=1.8 Hz), 5.41(1H, d, J= 1.5 Hz).

Sodium(6R,7S)-3-[[(6-ethoxybenzothiazol-2-yl)thio]-methyl]-7-bromo-3-cephem-4-carboxylate(6d) – Yield : 48%; R_f=0.35(H_2O : acetonitrile=1 : 2); ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ : 1.35 (3H, t, J_1=6.6 Hz, J_2=6 Hz), 3.61 and 3.75(2H, 2d, J=18.3 Hz), 4.07(2H, q), 4.43 and 4.61(2H, 2d, J=13.7 Hz), 5.03(1H, d, J=1.5 Hz), 5.37(1H, d, J=2.1 Hz), 7.07(1H, 2d), 7.61(1H, 2d), 7.73 and 7.77(1H, 2d).

Sodium(6R,7S)-3-[[(benzoxazol-2-yl)thio]-methyl]-7-chloro-3-cephem-4-carboxylate(7a) – Yield : 65%; R_f=0.62 (H_2O : acetonitrile=1 : 2); ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ : 3.52(d, 1H, J=16.2 Hz), 3.76(d, 1H, J=17 Hz), 4.41(d, 1H, J=12.5 Hz), 4.49(d, 1H, J=13 Hz), 4.52(d, 1H, J=1.8 Hz), 5.29(d, 1H, J= 1.8 Hz), 7.33~7.67(m, 4 H).

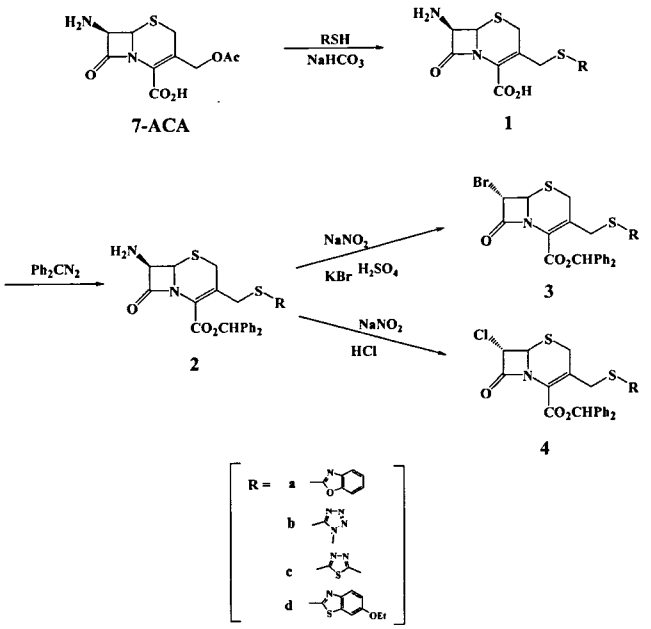
Sodium(6R,7S)-3-[[(1-methyltetrazol-5-yl)thio]-methyl]-7-chloro-3-cephem-4-carboxylate(7b) – Yield : 65%; R_f=0.65 (H_2O : acetonitrile=1 : 1); ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ : 3.40(d, 1H, J=6.7 Hz), 3.42(d, 1H, J=6.8 Hz), 3.92(s, 3H), 4.28(d, 1H, J=12.6 Hz), 4.35(d, 1H, J=12 Hz), 4.93(d, 1H, J=1.8 Hz), 5.30(d, 1H, J=1.7 Hz).

Sodium(6R,7S)-3-[[(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)thio]-methyl]-7-chloro-3-cephem-4-carboxylate(7c) – Yield : 61%; R_f=0.74(H_2O : acetonitrile=1 : 2); ^{1}H-NMR(DMSO-d_6), δ : 2.69(3H, s), 3.48 and 3.72(2H, 2d, J=17.7 Hz), 4.35 and 4.55 (2H, 2d, J=12.5 Hz), 5.06(1H, d, J=1.8 Hz), 5.41(1H, d, J= 1.8 Hz).

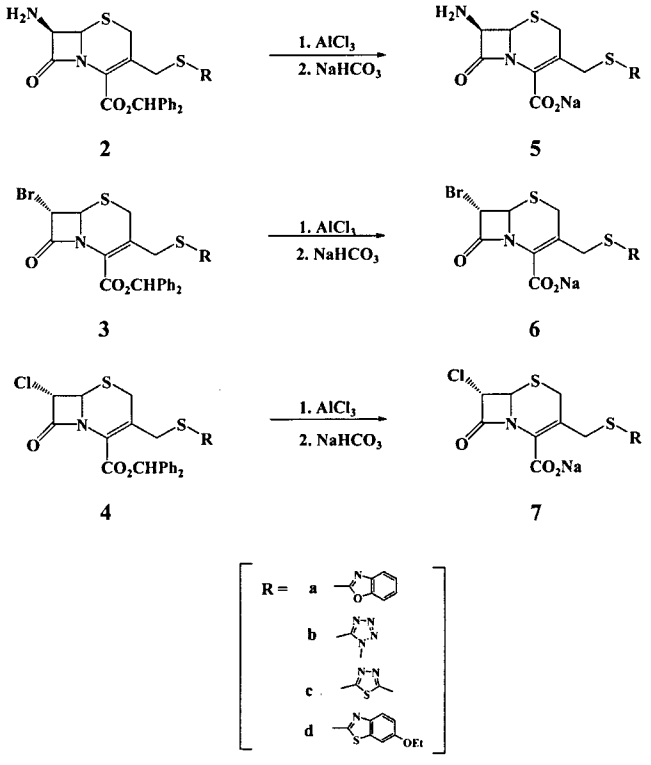
Sodium(6R,7S)-3-[[((6-ethoxy-benzothiazol-2-yl)thio]-methyl]-7-chloro-3-cephem-4-carboxylate(7d) – Yield : 47%; R_f=0.35(H_2O : acetonitrile=1 : 2); ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ : 1.35(3H, t, J=6.96 Hz), 3.61 and 3.75(2H, 2d, J=17.4 Hz), 4.07(2H, q), 4.42 and 4.63(2H, 2d, J=12.9 Hz), 5.01(1H, m), 5.36(1H, d, J=2.1 Hz), 7.03 and 7.05(1H, 2d), 7.61(1H, 2d), 7.73 and 7.75(1H, 2d).

실험결과 및 고찰

7-ACA와 thiol 화합물을 pH 6.5~6.8에서 6시간 동안 가열 환류한 후, pH를 3으로 조절하여 3-치환 7-ACA(**1**)를 40~84%의 수득률로 합성하였다. 이들 화합물에서 C_6-H와 C_7-H의 coupling constant($J_{6,7}$)는 4.2~5.2 Hz이였다. 따라서, 이들은 7-ACA에서와 같이 서로 *cis* 관계 즉, 7α-H와 6α-H이다. 3-치환 7-ACA(**1**)을 diphenyldiazomethane과 24시간 동안 상온에서 반응시켜 diphenylmethyl 7-aminocephalosporanate(**2**)를 35~71%의 수득률로 합성하였다. 이들 화합물에서도 C_6-H와 C_7-H의 coupling constant($J_{6,7}$)는 4.9~5.1 Hz이여서 7α-H와 6α-H이고, diphenylmethylester의 methyl peak가 δ 6.89~6.97에서 확인할 수 있었다. 7-Aminocephalosporanate(**2**)에 $NaNO_2$를 가하고, KBr과 황산 또는 HCl를 ice bath에서 반응하여 haloganation시킨 후, 정제하여 각각 7-bromocephalosporanate(**3**)을 48~71%의 수득률과 7-chlorocephalosporanate(**4**)를 46~66%의 수득률로 합성하였다(Scheme 1). 7-Haloephalosporanate(**3**~**4**)에서 C_6-H와 C_7-H의 coupling constant($J_{6,7}$)는 1.5~3.1 Hz이여서 이들은 서로 *trans* 관계 즉, 7β-H와 6α-H이다. Diphenylmethyl cephalosporanate (**2**~**4**)를 무수dichloromethane과 anisole에 용해하고, -78°C에서 $AlCl_3$로 처리하여 carboxylic acid 화합물로 만든 후, $NaHCO_3$ 용액을 사용하여 sodium salt 용액을 만들었다(Scheme 2). 이렇게



Scheme 1 – Synthesis of diphenylmethyl 3-substituted 7-halocephalosporanate.



Scheme 2 – Synthesis of sodium 3-substituted 7-halocephalosporanates.

얻은 sodium salt 용액을 동결건조하고 물과 CH_3CN을 이용하여 역상column으로 정제 한 후, 다시 동결 건조하여 sodium cephalosporanate(**5**~**7**)를 45~76%의 수득률로 합성하였다.

문 헌

1) Reading, C. and Farmer, T. : The inhibition of β-lactamases from gram-negative bacteria by clavulanic acid. *Biochem. J.* **199**, 779 (1981).
2) Hunter, P. A., Cloeman, K. J. and Taylor, D. : *In vitro* synergistic properties of clavulanic acid with ampicillin, amoxicillin, ticarcillin. *J. Antimicrob. Chemther.* **6**(4), 455 (1980).
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**(3), 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 2β-[(1,2,3-triazol-1-yl)methyl]-2α-methylpenam-3-carboxylic acid 1,1-dioxide and related triazolyl derivatives. *J. Med. Chem.* **30**, 1469 (1987).
5) Buynak, John D. : The discovery and development of modified penicillin- and cephalosporin-derived β-lactamase inhibitors. *Current Medicinal Chemistry* **11**(14), 1951 (2004).
6) Shintaro, N., Nobuyoshi, Y., Hiroshi, S. and Yoshimi, M. : Synthesis and β-lactamase inhibitor activity of 3-cyanocephem derivatives. *Bull. Chem. Soc.* 412 (1990).
7) Micetich, R. G. and R. Singh. : A convenient synthesis of N-(1-Methyoxyalkylidene)derivatioes of 6-Amino penicillinic and 7-aminocephalosporanic acid. *Synthesis*. 693 (1985).
8) Angelis, F., Attorrese, G., Cavicchio, G., Ciampa, S., Tullio, A., Fattori, D., Nicoletti, R. and Domenici, E. : Synthesis and preliminary biological evaluation of 3'-substituted cephem sulfones as potential β-lactamase inhibitors. *European Journal of Organic Chemistry* **16**, 3075 (2001).
9) Buynak, J. D., Vogeti, L., Doppalapudi, V. R., Solomon, G. M. and Chen, H. : Cephalosporin-derived inhibitors of β-Lactamase. Part 4: The C3 substituent. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **12**(12), 1663 (2002).
10) Shinraro, N., Hiroshi, S. and Nobuyoshi : Synthesis and β-lactamase inhibitory activity of 7α-hydroethyl-1-oxacephem derivatives. *J. of Antibiotics* **7**, 1124 (1989).
11) John, E. G. K., Michael, D. C., Subramanian, N. and Mark, H. S. : Nucleophilic S_N2 displacement on penicillin 6-and cephalosporin-7-triflate; 6β-Iodopenicillanic acid. A new β-lactamase inhibitor. *Tetrahedron Letter* **21**, 2991 (1980).
12) Micetich, R. G., Samarendra, N. M. and Paul, S. :Synthesis of 2β-azidomethylpenicillin-1.2-dioxides and 3β-azidomethylcepham-1.1dioxides. *Synthesis* 292 (1986).
13) Buynak, J. D. and Chen, H. : Cephalosporin-derived mercaptans as inhibitors of serine and metallo-beta- lactamases. *U.S. Pat.* 2006178357 (2006).