

새로운 세파로스포린계의 항생제 합성과 항균성

고옥현* · 강형룡 · 유진철 · 김경수 · 홍석순 · 김영수 · 황화영
조선대학교 약학대학

(Received March 9, 1992)

Synthesis and Antimicrobial Activity of Cephalosporin Antibiotic Derivatives

Ok Hyun Ko*, Hyung Ryong Kang, Jin Cheol Yoo, Gyung Soo Kim, Suk Soon Hong,
Young Soo Kim and Hwa Young Hwang
College of Pharmacy, Chosun University, Kwangju 501, Korea

Abstract—7 β -(5-Aryl-2H-tetrazol-2-yl)acetamidocephalosporanic acid(23~26) and 7 β -(5-Aryl-4-phenyl-4H-1, 2, 4-triazol-3-yl)thioacetamidocephalosporanic acid were synthesized by condensation of 5-Aryl-2H-tetrazol-2-acetyl chloride(17~20) and 5-Aryl-4-phenyl-4H-1, 2, 4-triazol-3-thioacetyl chloride(22~24) with 7-Aminocephalosporanic acid(7-ACA), respectively. These seven compounds were tested *in vitro* antimicrobial activity. These exhibited good antimicrobial activity against Gram-positive bacteria whereas most compounds showed decreased antimicrobial activity against Gram-negative bacteria

Keywords □ 7 β -[5-(2-Methoxy)benzyl-2H-tetrazol-2-yl]acetamidocephalosporanic acid, 7 β -[5-(1,5-Dimethyl-2-Pyrrole)-2H-tetrazol-2-yl]acetamidocephalosporanic acid, 7 β -[5-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)-2H-tetrazol-2-yl]acetamidocephalosporanic acid, 7 β -(5-Naphthyl-2H-tetrazol-2-yl)acetamidocephalosporanic acid, 7 β -[5(4-Methylphenyl)-4-phenyl-1, 2, 4-triazol-3-yl]thioacetamidocephalosporanic acid, [5-(2,4-Dichlorophenyl)-4-phenyl-4H-1, 2, 4-triazol-3-yl]thioacetamidocephalosporanic acid, 7 β -(5-Thiophenyl-4-phenyl-4H-1, 2, 4-triazol-3-yl)thioacetamidocephalosporanic acid.

7-ACA의 3위치에 acetoxymethyl기와 7위치의 amino기에 여러가지 치환체를 도입시킨 Cephalosporin계 항생제¹⁻¹⁷⁾가 많이 보고되었다. 본 저자들은 tetrazol과 triazol핵을 갖고 있는 화합물들이 항염증작용¹⁸⁻²²⁾ 등의 약리활성이 있다는 보고에 따라 tetrazol과 triazol에 phenyl기, naphthyl기 및 여러가지 heterocyclic comp.를 도입시키면 지용성이 커져서 항균력이 증가되리라 사료되어 방향족화합물을 도입시킨 (substituted)phenyltetrazolylacetic acid, naphthyltetrazolylacetic acid, (substituted)pyrrolyltetrazolylacetic acid, (substituted)phenylmethyltetrazol-

ylacetic acid, (substituted)phenyltetrazolylacetic acid 및 thiophenyltriazolylthioacetic acid를 합성하여 Vilsmer reagent²³⁻²⁵⁾로 acyl chloride를 만든 후 7-ACA를 Hexamethyldisilazane(HMDS)으로 Trimeethylsilylation하여 이들 acylchloride와 반응시켜 새로운 Cephalosporin계 화합물을 합성하였다. 이 화합물들을 Gram-양성균(*B. subtilis* ATCC 6633, *B. licheniformis* ATCC 14580, *M. luteus* ATCC 9341, *M. phlei* IFO 3158), Gram-음성균(*A. faecalis* KCTC 1004, *E. coli* KCTC 1039, *E. coli* ESS, *E. coli* 8S AOKI, *S. typhimurium* IFO 3153, *P. aeruginosa* IFO 13130), 진균(*Candida albicans* ATCC 10231)에 대하여 항균력을 시험하였다.

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

실험방법

시약 및 기기—본 실험에 사용된 시약들은 Aldrich Co, Tokyo Kasei, Fluka Co,에서 구입한 일급시약을 사용하였다. Thin Layer Chromatography(TLC)는 Kieselgel F₂₅₄을, 용정측정은 Gallen-Kamp melting point apparatus를, FT-IR spectra는 Bruker IFS 66을 사용하여 KBr pellet로 측정하였다. NMR Spectra는 Tetramethylsilane(TMS)를 내부 표준 물질로 하여 Bruker FT-80 MHz를 사용하였다. 원소분석(comp. 5, 6, 7, 8, 33, 35)은 Carlo-Erba Auto CHNS-O, EA1108 Element analyzer를 사용하였다.

5-(2-Methoxy)benzyl-2H-tetrazole(5)—2-Methoxyphenylacetonitrile 7g(0.047 mole), NaN₃ 3.34g(0.0513 mole), NH₄Cl 2.47g(0.0513 mole)을 증류한 DMF 50 ml에 가하고 유티상에서 24시간 가열 반응시켰다. 뜨거운 반응물을 잘게 썬 얼음에 저으면서 가하고 2N-HCl로 pH 2가 되도록 산성화 시켰다. 생성된 결정을 여과하고 얼음물로 세척하고 EtOH로 재결정하여 백색의 결정 7.4g(82%)를 얻었다. mp

135~139°C

NMR(DMSO-d₆) δ : 3.83(3H, s, -OCH₃), 4.19(2H, s, -CH₂-), 7.01~7.14(4H, m, ArH)

Anal. for C₉H₁₀N₄O

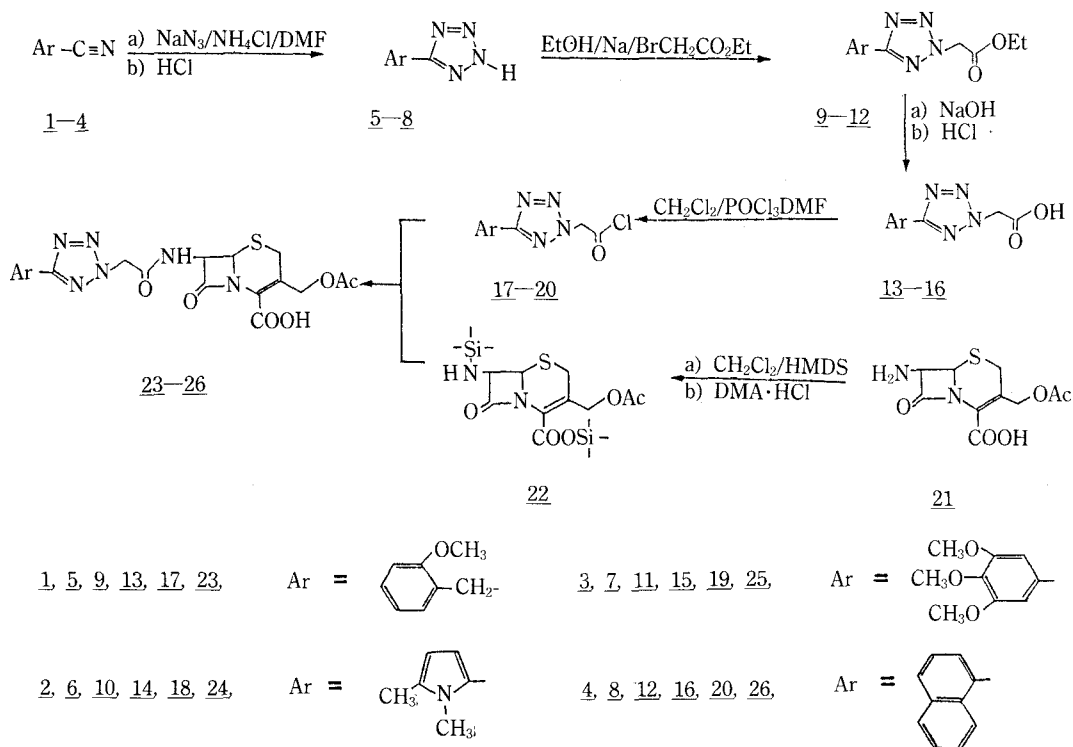
Calcd(%) C : 56.82 H : 5.30 N : 29.45

Found(%) C : 57.1 H : 5.28 N : 28.98

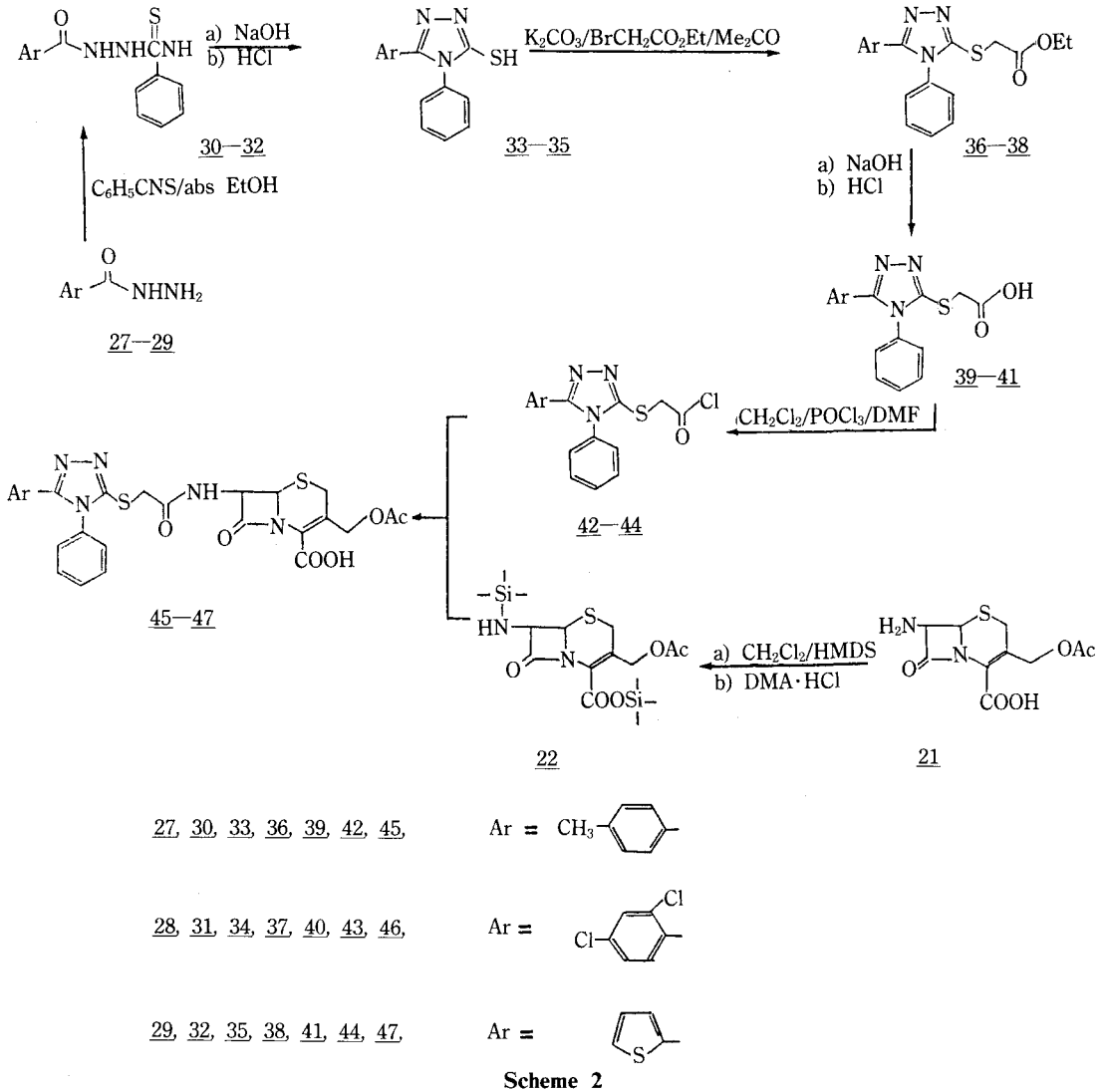
Ethyl[5-(2-Methoxy)benzyl-2H-tetrazol-2-yl]acetate(9)—Na 0.89g(0.03887 mole)을 EtOH 78 ml에 용해시킨 용액에 Comp.(5) 7.37g(0.0387 mole)을 가하여 환류시키면서 ethyl bromoacetate(이하EBA라함) 6.5g(0.0387 mole)을 2회 나누어 가하였다. 17시간 환류시키고 반응물을 뜨거운 때 여과한 후 강압 농축하였다. 생성된 결정을 여과하고 EtOH로 재결정하여 백색결정 9.4g(98.5%)을 얻었다. mp 96°C
FT-IRν_{max}^{KBr}cm⁻¹ 1740(C=O)

NMR(DMSO-d₆) δ : 1.16(3H, t, -CH₂CH₃), 3.72(3H, s, -OCH₃), 4.13(2H, q, -CH₂CH₃) 4.22(2H, s, -CH₂-), 5.46(2H, s, N-CH₂CO), 6.90~7.26(4H, m, ArH)

[5-(2-Methoxy)benzyl-2H-tetrazol-2-yl]acetic acid(13)—Comp.(9) 9.39g(0.0355 mole)을 2N-NaOH



Scheme 1



94 ml)에 가하여 4시간 동안 환류시키고 반응물을 진한 HCl로 pH 2로 산성화시켰다. 생성된 결정을 여과하여 H₂O로 세척한 후 진공건조해 EtOH로 재결정하여 백색침전 1.68g(20.2%)을 얻었다. mp 189.7~191.4°C

FT-IRv^{KBr}max cm⁻¹ 1728(C=O)

NMR(DMSO-d₆) δ : 3.72(3H, s, -OCH₃), 4.18(2H, s, -CH₂-), 5.36(2H, s, N-CH₂CO), 6.90~7.18, 7.26~7.30(4H, m, ArH)

7β[5-(2-Methoxy)benzyl-2H-tetrazol-2-yl]acetamidocephalosporanic acid (23) – DMF 0.123g(1.735 mmole)과 CH₂Cl₂ 10 ml은 혼합용매를 -10~0°C로 냉각시키고 교반하면서 syringe로 POCl₃ 0.27g(1.735

mmole)을 가하였다. 이 용액에 Comp.(13) 0.35g (1.58 mmole)을 가하여 실온에서 7시간 교반하였다 [Comp.(17)용액]. 7-ACA 0.43g(1.58 mmole)을 CH₂Cl₂ 15 ml에 현탁시키고 HMDS 0.51g(3.16 mmole)을 가한 후 8시간 수욕상에서 환류시켜 얻은 용액을 0~5 °C로 냉각하고 DMA 0.29g(1.58 mmole)을 가하였다. 이 용액에 DMA·HCl 미량을 가하여 pH 6으로 중화하였다[comp.(22)용액]. Comp.(17)용액을 syringe로 Comp.(22)용액에 가하고 10시간 교반하였다. 이 용액을 감압 농축하여 생성된 결정을 Me₂CO소량에 용해시킨후 빙수 50 ml에 교반하면서 소량씩 떨어뜨려 생성된 결정을 여과하여 미황색 결정 0.4g(57%)를

얻었다. mp 105~107°C

FT-IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ 1786(C=O, β -Lactam), 1715~1732 (C=O, ester)(C=O, carboxyl), 1696(-CONH-)

NMR(DMSO-d₆) δ : 2.04(3H, s, -CH₃), 3.32(2H, ABq, C₂-H), 3.75(3H, s, -OCH₃), 4.15(2H, s, -CH₂-), 4.97(1H, d, C₆-H), 5.12~5.18(2H, m, -CH₂O-), 5.20(1H, dd, C₇-H), 5.33(2H, s, NCH₂CO), 6.90~7.18, 7.26~7.30(4H, m, ArH), 9.50(1H, d, -CONH-)

5-(1, 5-Dimethyl-2-pyrrole)-2H-tetrazole(6) - 1, 5-Dimethyl-2-pyrrolecarbonitrile 10g(0.084 mole), NaN₃ 6.04g(0.092 mole), NH₄Cl 5g(0.092 mole) 및 DMF 84 ml를 Comp.(5)와 같은 방법으로 합성하여 연갈색 결정 7.1g(52%)를 얻었다. mp 198~200°C

NMR(DMSO-d₆) δ : 2.27(3H, s, -CH₃), 3.90(3H, s, N-CH₃), 5.99(1H, d, 3'-H, 4'-H)

Anal. for C₇H₉N₅

Calcd(%) C: 51.52 H: 5.56 N: 42.92

Found(%) C: 52.02 H: 5.78 N: 43.10

Ethyl[5-(1, 5-Dimethyl-2-pyrrole)-2H-tetrazol-2-yl]acetate(10) - Comp.(6) 2.2g(0.0133 mole), Na(0.0133 mole), abs EtOH 27 ml, EBA 2.2g(0.0133 mole)을 Comp.(9)와 같은 방법으로 합성하여 연분홍색 결정 1.5g(45%)을 얻었다. mp 204°C

FT-IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ 1715(C=O)

NMR(DMSO-d₆) δ : 1.22(3H, t, -CH₂CH₃), 2.26(3H, s, 5'-CH₃), 3.37(3H, s, NCH₂CO-), 4.26(2H, q, -CH₂CH₃), 5.45(2H, s, NCH₂CO-), 5.98(1H, d, 3'-H), 6.70(1H, d, 4'-H)

5-(1, 5-Dimethyl-2-pyrrole)-2H-tetrazol-2-acetic acid(14) - Comp.(10) 1.32g(0.052 mole)을 2N-NaOH 13.2 ml로 Comp.(13)과 같은 방법으로 가수분해하여 분홍색 결정 0.72g(61.5%)을 얻었다. mp 190~192°C

FT-IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ 1730(C=O)

NMR(DMSO-d₆) δ : 2.26(3H, s, 5'-CH₃), 3.81(3H, s, NCH₃), 5.66(2H, s, NCH₂CO-), 5.99(1H, d, 3'-H), 6.71(1H, d, 4'-H)

7 β [5-(1, 5-Dimethyl-2-pyrrole)-2H-tetrazol-2-yl]acetamidocephalosporanic acid(24) - Comp.(14) 0.353g (1.58 mmole), CH₂Cl₂ 15 ml, POCl₃ 0.27g(1.735 mmole), DMF 0.123g[Comp.(18)용액]. 7-ACA 0.43g (1.58 mmole), CH₂Cl₂ 15 ml, DMA 0.19g(1.58 mmole), HMDS 0.51g(3.16 mmole)을 사용하여 Comp.(23)과

같은 방법으로 합성하여 미황색의 결정 0.3g(40%)을 얻었다. mp>230°C

FT-IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ 1786(C=O, β -Lactam), 1740(C=O, ester), 1720(C=O, carboxyl), 1685(-CONH-)

NMR(DMSO-d₆) δ : 2.04(3H, s, -COCH₃), 2.26(3H, s, 5'-CH₃), 3.40(2H, ABq, C₂-H), 3.81(3H, s, N-CH₃), 4.97(1H, d, C₆-H), 5.59(2H, s, -CH₂CO-), 5.64(1H, dd, C₇-H), 5.99(1H, d, 3'-H)

5-(3, 4, 5-Trimethoxyphenyl)-2H-tetrazole(7) - 3, 4, 5-Trimethoxybenzonitrile 10.2g(0.05 mole), NaN₃ 3.61g(0.055 mole), NH₄Cl 2.99g(0.055 mole) 및 DMF 50 ml를 Comp.(5)와 같은 방법으로 합성하여 백색 결정 9.35g(75.2%)을 얻었다. mp 213°C

NMR(DMSO-d₆) δ : 3.75(3H, s, C₄-OCH₃), 3.88(6H, s, C₃ 및 C₅-OCH₃), 7.34(2H, s, ArH)

Anal. for C₁₀H₁₂N₄O₃

Calcd(%) C: 50.84 H: 5.12 N: 23.83

Found(%) C: 51.12 H: 5.07 N: 23.57

Ethyl[5-(3, 4, 5-trimethoxyphenyl)-2H-tetrazol-2-yl]acetate(11) - Comp.(7) 2.39g(0.01 mole), Na 0.23g (0.01 mole), EtOH 20 ml, EBA 1.68g(0.01 mole)을 Comp.(9)와 같은 방법으로 합성하여 백색결정 1.9g (58.6%)을 얻었다. mp 111~112°C

FT-IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ 1758(C=O)

NMR(DMSO-d₆) δ : 1.24(3H, t, -CH₂CH₃), 3.75(3H, s, 4'-OCH₃), 3.89(6H, s, 3' 및 5'-OCH₃), 4.23(2H, q, -CH₂CH₃), 5.88(2H, s, NCH₂CO-), 7.35(2H, s, ArH)

5-(3, 4, 5-Trimethoxyphenyl)-2H-tetrazol-2-acetic acid(15) - Comp.(11) 1.91g(0.057 mole)을 2N-NaOH 19 ml로 Comp.(13)과 같은 방법으로 가수분해하여 백색결정 1.6g(94%)을 얻었다. mp 199°C

FT-IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ 1733(C=O)

NMR(DMSO-d₆) δ : 3.74(3H, s, 4' -OCH₃), 3.88(6H, s, 3' 및 5' -OCH₃), 5.73(2H, s, NCH₂CO-), 7.34(2H, s, ArH)

7 β -[5-(3, 4, 5-Trimethoxyphenyl)-2H-tetrazol-2-yl]acetamidocephalosporanic acid(25) - Comp.(15) 0.465g(1.58 mmole), CH₂Cl₂ 5 ml 및 DMF 0.123g (1.735 mmole), POCl₃ 0.27g(1.735 mmole)과 7-ACA 0.43g(1.58 mmole), CH₂Cl₂ 15 ml, DMA 0.19g(1.58 mmole), HMDS 0.51g(3.16 mmole)을 사용하여

Comp.(23)과 같은 방법으로 합성하여 연갈색의 결정 0.28g(24%)을 얻었다. mp 165~167°C

FT-IRv_{max}^{KBr}cm⁻¹ 1773(C=O, β-Lactam), 1735(C=O, ester), 1701(C=O, carboxyl), 1670, 1556(-CONH-)

NMR(DMSO-d₆) δ : 2.04(3H, s, -CH₃), 3.38(2H, ABq, C₂-H), 3.74(3H, s, 4' -OCH₃), 4.97(1H, d, 6-H), 5.63(1H, dd, 7-H), 5.12(2H, s, -CH₂O), 5.67(2H, s, NCH₂CO-), 7.34(2H, s, ArH), 9.58(1H, d, -CONH-)

5-Naphthyl-2H-tetrazole(8) - 1-Cyanonaphthalene 5g(0.0326 mole), NaN₃ 3.18g(0.049 mole), NH₄Cl 2.62g(0.049 mole) 및 DMF 40 ml를 Comp.(5)와 같은 방법으로 합성하여 백색결정 5.7g(89.6%)을 얻었다. mp 220~220°C

Ethyl(5-Naphthyl-2H-tetrazol-2-yl)acetate(12) - Comp.(8) 5.5g(0.028 mole), Na 0.65g(0.028 mole), EtOH 55 ml 및 EBA 4.74g(0.028 mole)을 Come.(9)와 같은 방법으로 합성하여 백색결정 3.3g(42%)을 얻었다. mp 82~83°C

FT-IRv_{max}^{KBr}cm⁻¹ 1750(C=O)

NMR(DMSO-d₆) δ : 1.26(3H, t, -CH₂CH₃), 4.27(2H, q, -CH₂CH₃), 6.01(2H, s, NCH₂CO-), 7.67~7.80, 8.03~8.35 및 8.75~8.87(7H, m, naphthyl)

5-Naphthyl-2H-tetrazol-2-acetic acid(16) - Comp.(12) 2.9g(0.009 mole)을 2N-NaOH 28 ml로 Comp.(13)과 같은 방법으로 가수분해하여 백색결정 1.42g(60%)을 얻었다. mp 218°C

FT-IRv_{max}^{KBr}cm⁻¹ 1735(C=O)

NMR(DMSO-d₆) δ : 5.87(2H, s, NCH₂CO-), 7.53~7.84, 7.95~8.27 및 8.75~8.92(7H, m, naphthyl)

7β-(5-Naphthyl-2H-tetrazol-2-yl)acetamidocephalosporanic acid(26) - Comp.(16) 0.5g(1.97 mmole), DMF 0.15g(2.16 mmole), CH₂Cl₂ 10 ml 및 POCl₃ 0.33g(2.16 mmole)과 7-ACA 0.54g(1.97 mmole), CH₂Cl₂ 15 ml, DMA 0.24g(1.97 mmole) 및 HMDS 0.64g(3.96 mmole)을 각각 사용하여 Comp.(23)과 같은 방법으로 합성하여 갈색결정 0.68g(68%)을 얻었다. mp 120~122°C

FT-IRv_{max}^{KBr}cm⁻¹ 1781(C=O, β-Lactam), 1735(C=O, ester), 1710(C=O, carboxyl), 1653(C=O, -CONH-)

NMR(DMSO-d₆) δ : 2.04(3H, s, -CH₃), 3.60(2H, ABq, C₂-H), 4.97(1H, d, C₆-H), 5.19(2H, s, -CH₂O-), 5.58(1H, dd, C₇-H), 5.76(2H, s, N-CH₂CO-), 7.53~

7.78, 7.98~8.25 및 8.74~8.86(7H, m, naphthyl), 9.62(1H, d, -CONH-)

1-(4-Methylbenzoyl)-4-phenyl-3-thiosemicarbazide(30) - p-Toluic hydrazide 5g(0.033 mole), phenylisothiocyanate 4.51g(0.033 mole) 및 무수 EtOH 50 ml를 4시간 환류시키고 과량의 EtOH을 감압농축하여 생성된 결정을 여과한다. EtOH로 재결정하여 백색결정 8.4g(88%)을 얻었다. mp 182°C

FT-IRv_{max}^{KBr}cm⁻¹ 1100(C=O), 1631(C=O)

NMR(DMSO-d₆) δ : 2.37(3H, s, -CH₃), 7.12~7.54(5H, m, ArH), 7.86(4H, s, ArH), 9.71(1H, d, -CONH-), 10.43(2H, brs, -NHCONH-)

5-(4-Methylphenyl)-4-phenyl-3-mercapto-4H-1, 2, 4-triazole(33) - Comp.(30) 3g(0.01 mole), 2N-NaOH 100 ml를 수용상에서 4시간 환류시키고 반응물을 냉각한후 진한 HCl로 pH 2가 되도록 산성화하면 결정이 석출한다. 결정을 여과하여 냉수로 세척하였다. 건조 후 EtOH로 재결하여 백색결정 2.8g(98%)을 얻었다. mp 269~270°C

Anal. for C₁₅H₁₃N₃S

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

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

NMR(DMSO-d₆) δ : 2.26(3H, s, -CH₃), 7.16(4H, s, ArH), 7.24~7.55(5H, m, ArH), 14.02(1H, brs, -SH)

Ethyl[5-(4-methylphenyl)-4-phenyl-1, 2, 4-triazol-3-yl]thioacetate(36) - Comp.(33) 4.87g(0.017 mole), EBA 2.8g(0.017 mole), K₂CO₃ 2.76g 및 무수 Me₂CO 67 ml를 8시간 환류시켰다. 생성된 KBr을 여과하여 제거하고 여액을 감압농축하고 생성된 결정을 EtOH로 재결정하여 백색결정 5.6g(87%)을 얻었다. mp 110°C

FT-IRv_{max}^{KBr}cm⁻¹ 1745(C=O)

NMR(DMSO-d₆) δ : 1.20(3H, t, -CH₂CH₃), 3.35(2H, s, -S-CH₂CO), 4.07, q, -CH₂CH₃), 7.20(4H, s, ArH), 7.27~7.61(5H, m, ArH)

[5-(4-Methylphenyl)-4-pyrrole-1, 2, 4-triazol-3-yl]thio acetic acid(39) - Comp.(36) 3.96g(0.011 mole)을 2N-NaOH 40 ml로 4시간동안 환류시켰다. 뜨거운 반응물을 HCl로 pH 2가 되도록 산성화시켜 생성된 결정을 여과하고 EtOH로 재결정하여 백색결정 3.6g(99%)을 얻었다. mp 255~257°C

FT-IRv_{max}^{KBr}cm⁻¹ 1746(C=O)

NMR(DMSO-d₆) δ : 2.37(3H, s, -CH₃), 4.22(2H, s,

-SCH₂CO), 7.22~7.35(4H, m, ArH), 7.47~7.73(5H, m, ArH)

7β[5-(4-Methylphenyl)-4-phenyl-1, 2, 4-triazol-3-yl]thioacetamidocephalosporanic acid(45) - DMF 0.13 ml(1.68 mmole), CH₂Cl₂ 6 ml의 혼합용매를 -10~0°C로 냉각하고 교반하면서 POCl₃ 0.26g(1.68 mmole)을 가하였다. 이 용액에 Comp.(39) 0.5g(1.51 mmole)을 가하고 실온에서 5시간 교반하였다[Comp.(42)용액]. 한편, 7-ACA 0.86g(3.02 mmole)을 CH₂Cl₂ 20 ml로 현탁시키고 HMDS 0.244g(1.51 mmole)을 가하여 외부와의 공기를 차단하고 5시간 수욕상에서 환류하여 얻은 용액을 0.5°C로 냉각후 DMA 0.18g(1.51 mmole)을 가하였다. DMA·HCl 미량을 가하여 pH 6으로 중화시켰다[Comp.(22)용액]. Comp.(42)용액을 주사기를 사용하여 Comp.(22)의 용액에 서서히 가하고 0~5°C로 냉각하면서 30분간 교반 후 실온에서 2시간 교반하였다. 이 반응액에 물을 넣어 유기층을 분리 후 용매를 강압제거 하였다. 잔사를 Me₂CO소량에 녹인 후 빙수에 교반하면서 소량씩 떨어뜨려 생성된 미세결정을 여과하여 황색의 결정 0.6g(68%)을 얻었다. mp 145~150°C

FT-IRv_{max}^{KBr}cm⁻¹ 1783(C=O, β-Lactam), 1737(C=O, ester), 1686(C=O, -CONH-)

NMR(DMSO-d₆) δ : 2.03(3H, s, -COCH₃), 2.27(3H, s, -CH₃), 3.56(2H, ABq, C₂-H), 4.26(2H, s, -SCH₂CO), 4.80(2H, s, -CH₂CO), 5.1(1H, d, C₆-H), 5.5(1H, dd, C₇-H), 7.17~7.20(4H, m, ArH), 7.28~7.92(5H, m, ArH), 9.22(1H, d, -CONH-)

1-(2, 4-Dichlorobenzoyl)-4-phenyl-3-thiosemicarbazide(31) - 2, 4-Dichlorobenzoic acid hydrazide 3.1 g(0.015 mole), phenylisothiocyanate 2.03g(0.015 mole) 및 EtOH 20 ml을 사용하여 Comp.(30)과 같은 방법으로 합성하여 백색결정 4g(78%)을 얻었다.

FT-IRv_{max}^{KBr}cm⁻¹ 1653(C=O), 1109(C=S)

NMR(DMSO-d₆) δ : 7.25~7.79(8H, m, ArH), 9.68(1H, d, -CONH-), 10.45(2H, brs, -NHCSNH-)

5-(2, 4-Dichlorobenzoyl)-4-phenyl-3-mercapto-4H-1, 2, 4-triazole(34) - Comp.(31) 9.5g(0.028 mole)을 Comp.(33)와 같은 방법으로 합성하여 백색결정 8.8g(97%)을 얻었다. mp 223~224°C

Anal. Calcd for C₁₄H₉N₃Cl₂S

Calcd(%) C : 39.91 H : 25.65 N : 9.97

Found(%) C : 40.12 H : 25.23 N : 10.02

NMR(DMSO-d₆) δ : 7.24(8H, m, ArH)

Ethyl[5-(2, 4-Dichlorophenyl)-4-phenyl-4H-1, 2, 4-triazol-3-yl]thioacetate(37) - Comp.(34) 7g(0.022 mole), K₂CO₃ 3.59g(0.026 mole), EBA 3.62g(0.022 mole), Me₂CO 87 ml을 Comp.(36)와 같은 방법으로 합성하여 백색결정 7.6 g(85%)을 얻었다. mp 116~117°C

FT-IRv_{max}^{KBr}cm⁻¹ 1745(C=O)

NMR(DMSO-d₆) δ : 1.203(3H, t, -CH₂CH₃), 4.10(2H, s, -SCH₂CO), 4.16(2Hq, CH₂CH₃) 7.25~7.991(8H, m, ArH)

[5-(2, 4-Dichlorophenyl)-4-phenyl-4H-1, 2, 4-triazol-3-yl]thioacetic acid(40) - Comp.(37) 6.5g(0.0159 mole), 2N-NaOH 65 ml을 사용하여 Comp.(39)와 같은 방법으로 가수분해하여 백색결정 5.7g(94%)을 얻었다. mp 209°C

FT-IRv_{max}^{KBr}cm⁻¹ 1720(C=O)

NMR(DMSO-d₆) δ : 4.11(2H, s, -SCH₂CO), 7.25~7.98(8H, m, ArH)

[5-(2, 4-Dichlorophenyl)-4-phenyl-4H-1, 2, 4-triazol-3-yl]thioacetamidocephalosporanic acid(46) - Comp.(40) 0.6g(1.58 mmole), CH₂Cl₂ 10 ml, DMF 0.13g, (1.73 mmole), 및 POCl₃ 0.27g(1.73 mmole)과 7-ACA 0.43g(1.58 mmole), DMA 0.19g(1.58 mmole), CH₂Cl₂ 15 ml 및 HMDS 0.51g(3.16 mmole)을 사용하여 Comp.(45)와 같은 방법으로 합성하여 미백색결정 0.2g(20%)을 얻었다. mp 172~174°C

FT-IRv_{max}^{KBr}cm⁻¹ 1783(C=O, β-Lactam), 1770(C=O, ester), 1692(C=O, -CONH-)

NMR(DMSO-d₆) δ : 2.04(3H, s, -COCH₃), 3.55(2H, ABq, C₂-H), 4.15(2H, s, -SCH₂CO-), 4.78(2H, s, -CH₂O), 4.96(1H, d, C₆-H), 5.58(1H, dd, C₇-H)

1-(2-Thiophenyl)-4H-phenyl-3-thiosemicarbazide(32) - 2-Thiophenecarboxylic hydrazide 14.66g(0.1 mole), phenylisothiocyanate 13.65g(0.1 mole) 및 EtOH을 사용하여 Comp.(30)과 같은 방법으로 합성하여 백색결정 24.65g(87.9%)을 얻었다. mp 193~195°C

FT-IRv_{max}^{KBr}cm⁻¹ 1675(C=O), 3162, 3345(-NH-)

NMR(DMSO-d₆) δ : 6.69~6.76(1H, m, thienyl-β), 6.92~7.04(2H, m, thienyl-α), 7.45~7.86(5H, m, ArH), 9.67(1H, d, -CONH-), 10.43(2H, brs, -NHC-

SNH-).

5-Thiophenyl-4-phenyl-3-mercapto-4H-1, 2, 4-triazole(35)—Comp.(32) 20g(0.072 mole)을 2N-NaOH 200 ml로 Comp.(33)와 같은 방법으로 가수분해 백색 결정 15g(81%)을 얻었다. mp 264~267°C

Anal. Calcd for $C_{10}H_9N_3Cl_2S$

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

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

NMR(DMSO- d_6) δ : 6.71~6.77(1H, m, thienyl- β), 6.90~7.07(2H, m, thienyl- α), 7.50~7.78(5H, m, ArH)

Ethyl-[5-thiophenyl-4-phenyl-4H-1, 2, 4-triazol-3-yl]thioacetate(38)—Comp(35) 15.02g(0.058 mole), K_2CO_3 7.21g(0.068 mole), ethylbromacetate 9.88g(0.058 mole), Me_2CO 230 ml를 사용하여 Comp.(36)과 같은 방법으로 합성하여 백색결정 24.7g(87.9%)을 얻었다. mp 193~195°C

FT-IR $\nu_{max}^{KBr}cm^{-1}$ 1738(C=O)

NMR(DMSO- d_6) δ : 1.22(3H, t, $-CH_2CH_3$), 3.35(2H, s, $-SCH_2CO$) 4.08(2H, q, $-CH_2CH_3$), 6.67~6.80(1H, m, thienyl- β), 6.93~7.04(2H, m, thienyl- α), 7.46~7.85(5H, m, ArH)

(5-Thiophenyl-4-phenyl-4H-1, 2, 4-triazol-3-yl)thioacetic acid(41)—Comp(38) 17.2g(0.058 mole),

2N-NaOH 170 ml를 사용하여 Comp.(39)와 같은 방법으로 가수분해하여 백색결정 14.5g(95%)을 얻었다. mp 125°C

FT-IR $\nu_{max}^{KBr}cm^{-1}$ 1604(C=O)

NMR(DMSO- d_6) δ : 3.75(2H, s, $-CH_2CO$), 6.66~6.76(1H, m, thienyl- β), 6.91~7.02(2H, m, thienyl- α), 7.45~7.83(5H, m, ArH)

7 β -(5-Thiophenyl-4-phenyl-4H-1, 2, 4-triazol-3-yl)thioacetamidocephalosporanic acid(47)—Comp(41) 0.49g(1.58 mmole), DMF 0.13g(1.73 mmole), CH_2Cl_2 10 ml 및 $POCl_3$ 0.27g(1.74 mmole)과 7-ACA 0.43g(1.58 mmole), CH_2Cl_2 15 ml, DMA 0.19g(1.58 mmole) 및 HMDS 0.51g(3.16 mmole)을 Comp.(45)와 같은 방법으로 합성하여 황색결정 0.52g(58%)을 얻었다. mp 114~115°C

FT-IR $\nu_{max}^{KBr}cm^{-1}$ 1780(C=O, β -Lactam), 1736(C=O, ester), 1683(C=O, $-CONH-$)

NMR(DMSO- d_6) δ : 2.02(3H, s, $-COCH_3$), 3.54(2H, ABq, C_2-H), 4.15(2H, s, $-SCH_2CO-$) 4.94(1H, d, C_6-H), 5.52(1H, dd, C_7-H), 6.68~6.75(1H, m, thienyl- β), 6.93~7.10(1H, m, thienyl- α), 7.43~7.88(5H, m, ArH)

항균력 시험

시험균주—Gram 양성세균으로 *Bacillus subtilis*

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

Strains	Compounds								Cephadrine	Cefazoline
	23	24	25	26	45	46	47			
<i>Alcaligenes faecalis</i> KCTC 1004	>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40
<i>Bacillus licheniformis</i> ATCC 14580	40	5	20	5	>40	40	20	20	10	
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.16	1.25	<0.08	0.16	1.25	1.25	0.63	0.6	0.16	
<i>Escherichia coli</i> KCTC 1039	>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40	20	2.5	
<i>Escherichia coli</i> Ess	10	1.25	1.25	2.5	20	40	5	2.5	0.31	
<i>Escherichia coli</i> 8S AOKI	>40	20	>40	>40	>40	>40	>40	5	0.31	
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	1.25	0.16	0.16	<0.08	0.63	1.25	0.63	<0.08	0.63	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 13130	>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40	
<i>Salmonella typhimurium</i> IFO 3153	>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40	40	5	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	5	0.63	1.25	2.5	10	20	10	>40	1.25	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40	

23 : 7 β -[5-(2-Methoxy)benzyl-2H-tetrazol-2-yl]acetamidocephalosporanic acid.

24 : 7 β -[5-(1, 5-Dimethyl-2-pyrrole)-2H-tetrazol-2-yl]acetamidocephalosporanic acid.

25 : 7 β -(5-Naphthyl-2H-tetrazol-2-yl)acetamidocephalosporanic acid.

45 : 7 β -[5-(4-Methylphenyl)-4-phenyl-1, 2, 4-triazol-3-yl]thioacetamidocephalosporanic acid.

46 : 7 β -[5-(2,4-Dichlorophenyl)-4-phenyl-4H-1, 2, 4-triazol-3-yl]thioacetamidocephalosporanic acid.

47 : 7 β -(5-Thiophenyl-4-phenyl-4H-1, 2, 4-triazol-3-yl)thioacetamidocephalosporanic acid.

ATCC 6633, *Bacillus licheniformis* ATCC 14580, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Mycobacterium phlei* IFO 3158를 사용하였으며 Gram음성세균으로는 *Alcaligenes faecalis* KCTC 1004, *Escheria coli* KCTC 1039, *Escherichia coli* 8S AOKI, *Escherichia coli* ESS, *Salmonella typhimurium* IFO 3153, *Pseudomonas aeruginosa* IFO 13130을 사용하였다. 그리고 진균으로는 *Candida albicans* ATCC 10231을 시험균주로 사용하였다.

배지—시험균주의 전배양 및 검정 plate의 제조 목적으로 Muller Hinton broth (DIF CO.)을 사용하였다.

항균활성 측정법

검정 plate의 제조—Comp.23, 24, 25, 26, 45, 46, 47을 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 섞었을때 최종배지의 Comp.23, 24, 25, 26, 45, 46, 47 및 대조물질(cephradine, cefazoline)의 농도가 각각 40, 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.63, 0.31, 0.16, 0.08 µg/ml이 되도록 제조하였다. 이때 대조용 배지로 합성한 화합물과 대조물질이 들어있지 않은 2%(v/v)DMSO용액을 영양한천배지 14ml와 섞어 제조하였다.

항균력 판정—각각의 시험균주들은 검정 plate에 접종하고 35°C에서 24시간 배양후 육안으로 관찰하여 시험균주들의 성장이 억제되는 항균제의 최소발육저지농도(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)를 정하였다. Table I에서 보는 바와 같이 합성된 화합물들은 사용된 대조물질과 항균력을 비교하였을 때, Comp.24, 26은 *B. licheniformis*에 Comp.23, 25, 26은 *B. subtilis*에, Comp.24, 25은 *E. coli* ESS에, Comp.23, 24, 25, 26, 45, 46, 47은 *M. phlei* 및 *S. aureus*에 대하여 cephradine보다 우수하였다. 한편, cefazoline과 비교하였을 때는 Comp.24, 26은 *B. licheniformis*에, Comp.25은 *B. Subtilis*에, Comp.24, 25, 26은 *M. luteus*에, Comp.24은 *S. aureus*균에 대하여 더 우수한 항균력을 나타내었다. *A. faecalis* KCTC 1004, *E. coli* KCTC 1038, *E. coli* 8S AOKI, *P. aeruginosa* IFO 13130, *S. typhimurium* IFO 3153에는 대체적으로 항균력이 저하되었으며 진균류인 *C. albicans* ATCC 10231에는 대조물질과 마찬가지로 감수성을 보이지

않았다.

감사의 말씀

이 논문은 1990년도 교육부지원 학술진흥재단의 대학부설연구소지원 학술 연구조성비에 의하여 연구 되었으므로 이에 감사합니다.

문 헌

- 1) Walker, D., Silverstri, H.H., Sapino, C. and Johnson, D.A.: Production of cephalosporins. *U.S. Pat.*, 4, 223, 135 (1980).
- 2) Spencer, J.L., Flynn, E.H., Roeske, R.W., Siu, F.Y. and Chauvette, R.R.: Chemistry of cephalosporin and some homologs. *J. Med. Chem.*, 9, 746 (1966).
- 3) Ryan, C.W., Simson, R.L. and Van Hcinegen, E. M.: Chemistry of cephalosporin antibiotics XII, desacetoxycephalosporins. The synthesis of cephalixin and some analogs. *J. Med. Chem.*, 12, 310 (1968).
- 4) Chauvette, R.R., Pennington, P.A., Ryan, C.W., Cooper, R.D.G., Jose, F.L., Wright, I.G., Van Heyningen, E.M. and Huffman, G.W.: Chemistry of cephalosporin antibiotics XXI, conversion of penicillins to cephalixin. *J. Org. Chem.*, 36, 1259 (1971).
- 5) Garzone, P., Lyon, J. and Yu, V.L.: Third-generation and investigational cephalosporins. I. Structure-activity relationships and phamacokinetic review. *Drug Intell. Clin. Pharm.*, 17, 507 (1983).
- 6) Neu, H.C. and Winsnell, E.B.: *In Vitro* evaluation of cephacetrile, A new cephalosporin antibiotic. *J. Antibiot.*, 25, 400 (1972).
- 7) Sham, P.M., Troche, G. and Still, W.: *In vitro* activity of HR 756, A new cephalosporin compounds. *J. Antibiot.*, 31, 1170 (1978).
- 8) Currin, W.V. and Ross, A.A.: 7β-[2-(2-aminothiazol-4-yl)-(Z)-methoxyiminoacetamido]-3-em-4-carboxylic acid. *J. Antibiot.*, 36(2), 179 (1982).
- 9) Bucourt, R., Heymes, R., Lutz, A., Penasse, L. and Perronnet, J.: Cephalosporin a chaines amino-2-thiazolyl-4-acetyles. *Tetrahedron* 34, pp.2233-2243 (1978).
- 10) Ochia, M., Aki, O., Morimoto, A., Okada, T. and

- Shita, Y.M.: New cephalosporin derivatives with high antibacterial activity. *Chem. Pharm. Bull.*, **25** (11), 3115 (1977).
- 11) Gorden, E.M., Chang, H.W., Cimarusti, C.M., Toepliz, B. and Gougoatas, J.Z.: Sulfenyl transfer rearrangement of sulfenimines (thioximes), A nobel synthesis of 7-methoxycephalosporins and 6-methoxypenicillins. *J. Am. Chem. Soc.*, **102**(5), 1690 (1980).
 - 12) Sen, T.Y. and Dorn, C.P.: Antiinflammatory of 3-indenylmethyltetrazols. *German Pat.*, 1, 815, 451 (1969). *Chem. Abst.*, **71**, 91488 (1969).
 - 13) Hoffman, C. and Dordilly, A.: 5-[-(phenylamino)-3-pyridyl]-tetrazole. *German Pat.*, 1, 934, 551 (1970). *Chem. Abst.*, **72**, P90476Y (1970).
 - 14) Aries, R.: Antiinflammatory, antipyretic, analgcsic tetrazoylaminonicotinic acid. *French Pat.*, 1, 584, 861 (1972), *Chem. Abst.*, **74**, 3634Y (1972).
 - 15) Susumu, T., Mitstru, S. and Michiyuki, C.: 7 β -[D- α -amino- α -p-hydroxyphenyl] acetamido]-3H-1, 2, 3-triazol-5-yl]thiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid. *Japan Kokai* **77**, 136, 191, *Chem. Abst.*, **88**, 10538V (1978).
 - 16) Takaya, T., Takasugi, H., Masugi, T., Chiba, T., Kochi, H., Takano, T. and Vakano, H.: Structure-activity relationships of sodium 7 β -[2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-(methoxyimino) acetamido]-3-cephem-4-carboxylate and its related compounds. *Chem. Soc. Japan* No.5, pp.785-804 (1981).
 - 17) Curran, W.V. and Ross, A.A.: 7 β -[2-(2-aminothiazol-4-yl)-(z)-2-methoxyiminoacetamido-3-(1, 2, 3-thiadiazol-5-yl)thiomethyl]-ceph-3-em-4-carboxylic acid. *J. Antibiot.*, (2), 179 (1982).
 - 18) Juby, P.F. and Hudyma, T.W.: Preparation and antiinflammatory properties of some 1-substituted-3-(5-tetrazolmethyl)indoles and homologs. *J. Med. Chem.*, **12**, 396 (1969).
 - 19) George, T., Mehta, D.O., Tahilramani, R., David, J. and Talwalker, P.K.: Synthesis of some s-trisoles with potential analgetic and antiinflammatory activities. *J. Med. Chem.*, **14**, 335 (1971).
 - 20) Parmer, S.S., Gupta, A.K., Singh, H.H. and Gupta, T.K.: Benzimidazolyl-4H-1, 2, 4-triazoles as central nervous system depressants. *J. Med. Chem.*, **15**(9), 999 (1972).
 - 21) Jaswal, R.K., Palmer, S.S., Singh, S.P. and Barthwal, J.P.: Synthesis of 5-(3, 4, 5-trimethoxyphenyl)-4-substituted aryl-3-hydrazino-carbonylmethylthio-4H-1, 2, 4-triazoles as possible antiinflammatory agents. *J. Hetrocyclic Chem.*, **16**, 561 (1979).
 - 22) Raman, K., Parmer, S.S. and Sigh, S.P.: Synthesis of 1-(5-phenyl-2H-tetrazol-2-yl)acetyl-4-substituted thiosemicabazides as possible antiinflammatory agents. *J. Heterocyclic Chem.*, **17**, 1137 (1980).
 - 23) 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-thiazol-yl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-cephem-4-carboxylate(ceftizoxime) and its related compounds. *Chem. Soc. Japan* No.5, pp.785-840 (1981).
 - 24) Park, J.S., Kim, K.Y. and Ryu, E.K.: Synthesis and antibacterial activity of 7 β -[2-(substituted benzylthio) alkanamido] cephalosporins. *Yakhak Hoeji* **32** (4), pp.222-229(1988).
 - 25) Kim, Y.S., Ko, O.H. and Kang, H.R.: Synthesis and antimicrobial activity of 7 β -diphenyl triazolyl thioacetamido cephalosporin. *Yakhak Hoeji* **34**(2), pp.117-121 (1990).