

7-[(3-메틸티오 또는 3-메틸티오메틸)-3-피롤리닐]퀴놀론-3-카르복실산의 합성과 항균작용

이재욱* · 손호정 · 이규삼 · 유영효 · 김대영*

*(주)대웅제약 중앙연구소, *순천향대학교 화학과

(Received July 25, 1994)

Synthesis and Antimicrobial Activity of 7-[(3-Methylthio or 3-Methylthiomethyl)-3-pyrrolinyl]quinolone-3-carboxylic Acids

Jae Wook Lee*, Ho Jung Son, Kyu Sam Lee, Young Hyo Yu and Dae Young Kim*

R&D Center, Dae Woong Pharmaceutical Co. Ltd., 223-23 Sangdaewondong, Sungnam, Kyungido 462-120, Korea

*Department of Chemistry, Soonchunhyang University, Onyang P.O. Box 97, Chungnam 336-600, Korea

Abstract—A number of 7-[(3-methylthio or methylthiomethyl)-3-pyrrolinyl]quinolone-3-carboxylic acids were synthesized by condensation of 7-fluoro substituted quinolone-3-carboxylic acid with 3-methylthio-3-pyrroline or 3-methylthiomethyl-3-pyrroline. The *in vitro* antimicrobial activity of them were tested against twenty species of Gram-positive or Gram-negative microorganisms. It showed remarkable antibacterial activity, particularly against Gram-positive microorganisms. Among those 1-cyclopropyl-6,8-difluoro-7-[(3-methylthiomethyl)-3-pyrrolinyl]-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid(12a) and 1-cyclopropyl-6-fluoro-8-chloro-7-[(3-methylthiomethyl)-3-pyrrolinyl]-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid(12b) showed the most potent *in vitro* antibacterial activity.

Keywords □ 3-methylthiomethyl-3-pyrroline, 3-methylthio-3-pyrroline, quinolone antibacterial, antibacterial activity.

경구용 항균제로 광범위한 항균활성을 갖고 있는 퀴놀론계 항균제는 퀴놀론 또는 나프티리딘 모핵의 7번 위치에 피페라진과 같은 디아민 형태의 치환기를 갖고있다.¹⁾ 7번 위치의 치환기가 항균력과 항균범위에 큰 영향을 주기 때문에 새로운 치환기를 도입하여 항균력과 항균범위를 향상시키고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다.²⁾ 현재 사용되고 있는 퀴놀론계 항균제들도 Gram 음성균에 대한 항균력은 우수한데 비해 Gram 양성균에 대한 항균력은 다소 뒤떨어진다.

본 저자들은 광범위한 항균활성을 갖는 신물질 개발을 위해 7번 위치에 새로운 치환기를 갖고 있는 퀴놀론 유도체의 합성과 항균작용에 대하여 연구하여 왔으며, 최근에 Gram 양성균에 대한 항균력이 매우 우수한 새로운 퀴놀론 유도체의 합성과 항균작용에

대하여 보고하였다.³⁾ 이러한 구조활성 관계로부터 항균범위의 증진과 Gram 양성균에 대한 항균력의 증진을 목적으로 7번 위치에 3-메틸티오-3-피롤린과 3-메틸티오메틸-3-피롤린이 치환된 새로운 퀴놀론 유도체를 합성하여 항균활성을 검색하였다.

실 험

사용한 시약들은 Aldrich社와 Fluka, Janssen, Tokyo Kasei 그리고 동아화학 등의 전문시약회사 제품을 사용하였다. Thin layer chromatography(TLC)는 Kieselgel 60F254를 사용했고 Column chromatography에 사용된 silica gel은 70~230 mesh 입자크기이다. 융점은 Gallenkamp melting point apparatus를 이용하여 측정하였고 온도보정은 하지 않았다.

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

NMR은 Bruker FT-80형을 사용하였고 Tetramethylsilane(TMS)를 내부 표준물질로 사용하였다.

N-tert-Butoxycarbonyl-3-[(methanesulfonyl)oxymethyl]-3-pyrroline(2)의 합성—N-tert-Butoxycarbonyl-3-hydroxymethyl-3-pyrroline⁴⁾(1) 5.1 g(27 mmol)을 디클로로메탄 100 mL에 녹인후 트리에틸아민 4.7 mL(34 mmol)를 가하고 $-5^{\circ}\text{C} \sim -10^{\circ}\text{C}$ 로 냉각하였다. 메탄술폰닐 클로라이드 2.6 mL(34 mmol)를 디클로로메탄 100 mL에 녹인 용액을 10분 동안 적가한 후, 상온에서 10시간 교반하고 증류수 150 mL를 가한다. 유기층을 분리하여 10% NaHCO_3 용액으로 세척하고 MgSO_4 로 건조하였다. 용액을 감압농축한 후 관 크로마토그래피(디에틸에테르 : 헥산 = 1 : 1)를 이용하여 황갈색 유상의 목적물 6.14 g(수율 = 85%)을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 1.47(9H, s), 3.09(3H, s), 4.14(4H, s), 4.30(2H, s), 5.82 (1H, s).

N-tert-Butoxycarbonyl-3-methylthiomethyl-3-pyrroline(3)의 합성—N-tert-Butoxycarbonyl-3-[(methanesulfonyl)oxymethyl]-3-pyrroline(2) 2.0 g(7.2 mmol)과 NaSMe 0.76 g(11 mmol)을 무수 DMF 50 mL에 녹인후 80°C 에서 4시간 교반하고 상온으로 냉각하였다. 증류수 50 mL를 가하고 디에틸에테르(50 mL \times 2)로 추출하였고, 유기층을 MgSO_4 로 건조하여 감압농축 하였다. 관 크로마토그래피(디에틸에테르 : 헥산 = 1 : 1)를 이용하여 황갈색 유상의 목적물 1.50 g(수율 = 91%)을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 1.47(9H, s), 2.03(3H, s), 3.16(2H, s), 4.13(4H, s), 5.59(1H, s).

3-Methylthiomethyl-3-pyrroline HI염(4)의 합성—N-tert-Butoxycarbonyl-3-methylthiomethyl-3-pyrroline(3) 1.50 g(6.6 mmol)을 클로로포름 20 mL에 녹인후 0°C 로 냉각시켰다. 질소하에서 트리에틸실릴 요오드 1.6 mL(11 mmol)를 적가하고, 상온에서 2시간 교반하였다. 메탄올 10 mL를 가하고 반응액을 감압농축하여 목적물인 요오드산염 1.50 g(수율 89%)을 갈색 결정으로 얻었다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 2.05(3H, s), 3.24(2H, s), 4.27(2H, s), 5.66 (1H, s).

N-tert-Butoxycarbonyl-4-hydroxy-3-(methylsulfinyl)pyrrolidine(6)의 합성—N-tert-Butoxycarbonyl-

4-hydroxy-3-methylthiopyrrolidine(5) 4.0 g(17.2 mmol)을 MeOH 50 mL에 녹인후, 증류수 65 mL에 녹아있는 NaIO_4 3.74 g을 0°C 에서 적가하였다. 0°C 에서 3시간 교반하고 여과한 다음, 여액을 클로로포름 100 mL로 추출하여 유기층을 MgSO_4 로 건조, 감압농축하여 목적물 4.19 g(수율 98%)을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 1.46(9H, s), 2.62, 2.70(3H, 2s), 3.14~3.45(2H, m), 3.60~4.01(3H, m), 4.08(1H, br), 4.23~4.60, 4.65~5.00(1H, m).

N-tert-Butoxycarbonyl-4-(methylsulfonyl)oxy-3-(methylsulfinyl)pyrrolidine(7)의 합성—화합물(6)을 출발물질로 하여 화합물(2)의 제조방법과 동일한 방법으로 상기화합물을 흰색 고체로 93%의 수율로 얻었다.

mp($^{\circ}\text{C}$): 118~121

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 1.47(9H, s), 2.63, 2.74(3H, 2s), 3.12(3H, s), 3.30~4.14(5H, m), 5.15~5.30, 5.50~5.65(1H, m).

N-tert-Butoxycarbonyl-3-(methylsulfinyl)-3-pyrroline(8)의 합성—벤젠 100 mL에 녹아있는 화합물(7) 4.5 g에 DBU 2.2 mL를 가하고 상온에서 16시간 교반하였다. 증류수 100 mL를 가한다음 유기층을 분리하고, 물층을 다시 클로로포름(50 mL \times 2)으로 추출하였다. 유기층을 MgSO_4 로 건조하고 감압농축한다. 관 크로마토그래피(에틸아세테이트 : MeOH = 9 : 1)를 이용하여 분리하면 흰색 고체로 2.92 g(수율 92%)의 목적물을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 1.48(9H, s), 2.72(3H, s), 4.34(4H, s), 6.42(1H, s).

N-tert-Butoxycarbonyl-3-methylthio-3-pyrroline(9)의 합성—화합물(8) 3.0 g과 triphenylphosphine 4.08 g을 80 mL의 사염화탄소에 녹인다음 2시간 동안 환류시킨다. 상온으로 냉각시킨 후 용액을 감압농축하여 30 mL정도로 만든후 생성된 고체를 제거한다. 모액을 농축하여 관 크로마토그래피(디에틸에테르 : 헥산 = 1 : 1)를 사용하여 유상의 목적물 2.43 g(수율 = 87%)을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 1.47(9H, s), 2.32(3H, s), 4.14(4H, br s), 5.31(1H, s).

3-Methylthio-3-pyrroline TFA염(10)의 합성—화합물(9) 1 g에 아니솔 0.1 mL를 가한다음, trifluoroac-

cetic acid 5 mL를 0°C에서 적가한후 상온에서 2시간 동안 교반한다. 반응액을 감압농축한 후, n-헥산(10 mL×4)으로 씻어준 다음 감압농축하여 갈색 유상의 화합물(10) 1.0 g(수율=95%)을 얻었다.

¹H-NMR(CDCl₃): δ 2.38(3H, s), 4.13(4H, br s), 5.29(1H, s), 9.84(2H, br s).

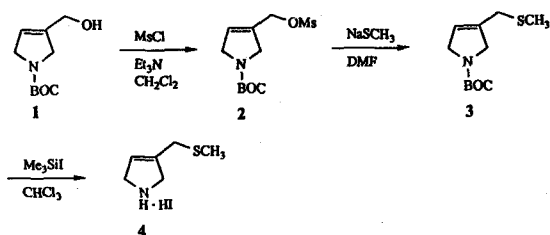
Quinolone 유도체 합성—Quinolone 유도체 합성은 다음과 같은 일반적인 방법으로 합성하였다. Quinolone 모핵 1당량을 아세트니트릴 용매에 현탁시킨 후 DBU 1당량을 가하여 10분간 교반시킨 후 C-7 아민 2당량과 트리에틸아민 3당량을 아세트니트릴 용매와 혼합후 상기 용액에 가하였다. 60°C 내외 또는 환류하에서 6시간에서 48시간 반응시키고 상온으로 온도를 내린후 석출된 결정을 여과하여 디에틸에테르로 씻어주고 건조하여 목적물을 얻었다.

결과 및 고찰

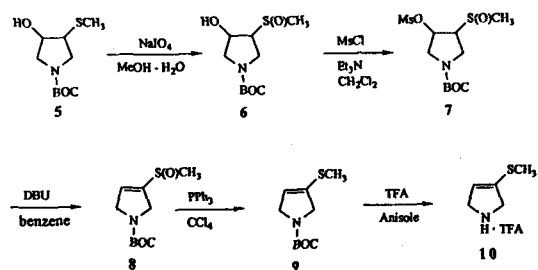
합성—퀴놀론 및 나프티리딘 모핵의 7번 위치에 3-methylthiomethyl-3-pyrroline과 3-methylthio-3-pyrroline이 치환된 새로운 유도체를 합성하여 항균제로서의 활성을 검색하였다. 3-Methylthiomethyl-3-pyrroline과 3-methylthio-3-pyrroline은 Scheme I, II에 나타나 있는 바와 같이 합성을 하였다.

3-Methylthio-3-pyrroline의 합성—Scheme I에 있는 바와 같이 N-tert-Butoxycarbonyl-3-hydroxymethyl-3-pyrroline⁴(1)을 출발물질로 하여 트리에틸아민과 메탄술포닐 클로라이드와 반응시켜 화합물(2)을 만든다음, NaSMs와 반응으로 메틸티오기를 도입하고 이것을 트리메틸실릴요드르 탈보호⁵시켜 목적 화합물을 요오드산염(4)으로 합성하였다.

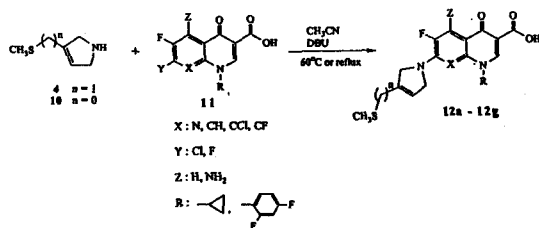
3-Methylthio-3-pyrroline의 합성—Scheme II에 있는 바와 같이 N-tert-Butoxycarbonyl-4-hydroxy-



Scheme I



Scheme II



Scheme III

3-methylthiopyrrolidine(5)를 출발물질로 하여 NaIO₄로 산화반응시켜 화합물(6)을 만든다음, 히드록시기를 메탄술포닐옥시기로 변화시켜 1,8-diazabicyclo[5.4.0]-undec-7-ene(DBU)를 염기로 사용하여 제거 반응시켜 화합물(8)을 얻었다. 트리페닐포스핀을 사용하여 메틸술포닐기를 메틸티오기로 변화시킨 다음, Trifluoroacetic acid(TFA)로 아민기를 탈보호시켜 목적물을 TFA염(10)으로 합성하였다.

Quinolone 유도체 합성—Quinolone 모핵 합성은 문헌에 알려진 방법으로 합성하였다.⁶⁻⁹ Quinolone 모핵과 C-7 아민 치환체와의 반응은 Scheme III에 나타나 있는 바와 같이 아세트니트릴 용매에서 1,8-diazabicyclo[5.4.0]-undec-7-ene (DBU) 1당량, C-7 아민 2당량, 트리에틸아민 3당량을 사용하여 60°C 내외 또는 환류하에서 6시간에서 48시간 정도 반응시켜서 quinolone 유도체를 얻었다. 이렇게 만들어진 유도체는 Table I에 나타내었다.

약효의 검색—합성된 화합물(12)은 Gram 양성균 및 Gram 음성균 20종에 대해서 항균활성을 시험하였다. 이때의 항균시험의 시험방법은 Japanese Chemotherapy Society의 표준방법에 의해서 한천 플레이트 희석법으로 실시하였다.¹⁰ 최소 발육저지 농도(MIC; µg/ml)는 대조물질로 사용한 ciprofloxacin과 비교하였다. 그 실험결과는 Table II에 나타내었다.

Table I—Synthesis of Quinolone and Naphthyridine Carboxylic Acids (**12**)

No	n	R	X	Z	Yield(%)	mp(°C)	¹ H NMR δ(ppm)
12a	1	c-C ₃ H ₅	CF	H	65	175~178	CDCl ₃ : 1.12~1.21(4H, m), 2.02(3H, s), 3.20(2H, s), 3.81~4.12(1H, m), 4.52~4.93(4H, m), 5.66(1H, s), 7.80(1H, dd, J=14.49 Hz, 1.83 Hz), 8.78(1H, s), 14.72(1H, br).
12b	1	c-C ₃ H ₅	CCl	H	62	176~180	CDCl ₃ : 1.08~1.24(4H, m), 2.03(3H, s), 3.21(2H, s), 3.84~4.18(1H, m), 4.50~5.01(4H, m), 5.68(1H, s), 7.94(1H, d, J=14.89 Hz), 8.67(1H, s), 14.38(1H, br).
12c	0	c-C ₃ H ₅	CF	NH ₂	60	231~232	CDCl ₃ : 1.06~1.23(4H, m), 2.40(3H, s), 3.54(2H, br), 3.86~3.99(1H, m), 5.44(1H, s), 8.61(1H, s), 14.80(1H, br)
12d	0	c-C ₃ H ₅	CF	H	70	231~234	CDCl ₃ : 1.10~1.30(4H, m), 2.29(3H, s), 3.92~4.10(1H, m), 4.66~4.70(1H, m), 5.44(1H, s), 7.83(1H, dd, J=14.32 Hz, 1.96 Hz), 14.73(1H, br).
12e	0	c-C ₃ H ₅	N	H	75	267~268	CDCl ₃ : 1.05~1.32(4H, m), 2.42(3H, s), 3.56~3.86(1H, m), 4.66(4H, s), 5.48(1H, s), 8.06(1H, d, J=12 Hz), 8.71(1H, s), 15.01(1H, br)
12f	0	2,4-F ₂ Ph	N	H	77	236~240	CDCl ₃ : 2.34(3H, s), 4.34(4H, s), 5.36(1H, s), 6.97~7.47(3H, m), 8.08(1H, d, J=12 Hz), 14.84(1H, br).
12g	0	2,4-F ₂ Ph	CH	H	55	246~248	CDCl ₃ : 2.36(3H, s), 4.28(4H, d), 5.39(1H, s), 5.74(1H, d, J=7 Hz), 7.05~7.64(3H, m), 8.02(1H, d, J=14 Hz), 8.51(1H, s), 14.99(1H, br).

Table II—Antibacterial Activity of New Quinolones and Naphthyridine Carboxylic Acids(MIC; µg/ml)

No.	Strains	Compounds						CPF [*]
		12a	12b	12d	12e	12f	12g	
1	S. Pyogenes A 308	0.781	0.391	0.195	3.125	1.563	3.125	1.563
2	S. Pyogenes A 77	0.391	0.391	0.195	3.125	0.781	3.125	0.391
3	S. faecium MD 86	0.391	0.391	1.563	1.563	1.563	1.563	0.391
4	S. aureus SG 511	0.002	0.002	0.002	0.049	0.098	0.391	0.195
5	S. aureus 285	0.013	0.002	0.004	0.049	0.098	0.391	0.781
6	S. aureus 503	0.004	0.004	0.004	0.098	0.098	0.391	0.391
7	E. coil O 55	0.049	0.049	0.391	0.391	1.563	1.563	0.007
8	E. coil DC 0	0.391	0.391	6.25	>100	>100	>100	0.195
9	E. coil DC 2	1.563	0.781	1.563	3.125	50	25	0.049
10	E. coil TEM	0.098	0.098	0.098	0.391	1.563	3.125	0.013
11	E. coil 1507 E	0.098	0.049	0.195	0.391	3.125	3.125	0.013
12	P. aeruginosa 9027	1.563	0.781	1.563	>100	>100	>100	0.195
13	P. aeruginosa 1592 E	3.125	1.563	3.125	>100	>100	>100	0.195
14	P. aeruginosa 1771	1.563	1.563	1.563	>100	>100	>100	0.391
15	P. aeruginosa 1771 M	0.025	0.025	0.098	12.5	>100	>100	0.195
16	S. typhimurium	0.195	0.195	0.098	0.391	1.563	3.125	0.013
17	K. oxytoca 1082 E	0.195	0.195	0.049	0.195	1.563	1.563	0.004
18	K. aerogenes 1552 E	0.781	0.781	0.195	0.781	6.25	6.25	0.025
19	E. cloacae 99	0.098	0.098	0.391	0.391	6.25	6.25	0.013
20	E. cloacae 1321 E	0.098	0.049	0.781	0.098	3.125	3.125	0.007

CPF^{*}=Ciprofloxacin

Table II에 나타난 바와 같이 대조물질인 ciprofloxacin과 비교할때 Gram 양성균에 대한 항균력은 동등하거나 우수하며 특히, *Staphylococcus aureus*에 대해서는 2배에서 8배 우수한 항균력을 나타내었고, Gram 음성균에 대해서는 7번 위치에 3-메틸티오메틸-3-피롤린이 치환된 화합물 **12a**, **12b**의 항균력이 ciprofloxacin에 근접하게 나타났고, 3-메틸티오-3-피롤린이 치환된 화합물 **12d**, **12e**, **12f**, **12g** 등은 낮은 항균력을 나타내었다. 결론적으로, 7번 위치의 치환기로 3-메틸티오메틸-3-피롤린이 3-메틸티오-3-피롤린보다 우수한 항균작용을 나타내었다.

문 헌

- 1) a) Koka, H., Itoh, A., Murayma, S., Suzue, S. and Irikura, T.: Structure activity relationships of antibacterial 6,7-and 7,8-disubstituted 1-alkyl-1,4-dihydro-4-oxo quinoline-3-carboxylic acids. *J. Med. Chem.*, **23**, 1358 (1980).
- b) Matsumoto, J., Miyamoto, T., Minamida, A., Nishimura, Y. and Egawa, H.: Pyridonecarboxylic acids as antibacterial agents: Synthesis and structure activity relationships of 1,6,7-trisubstituted 1,4-dihydro-4-oxo-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acids, including enoxacin, a new antibacterial agent. *J. Med. Chem.*, **27**, 292 (1984).
- c) Wise, R., Andrew, J. and Edware, L.: *In vitro* activity of Bay 09867, a new quinolone derivative, compared with those of other antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **23**, 559 (1983).
- d) Sata, K., Matsuura, Y., Inoue, M., Une, T., Osada, Y., Ogawa, H. and Mitsuhashi,.: *In vitro* and in vivo activity of DL-8280, a new oxazine derivative, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **22**, 548 (1982).
- 2) Wolfson, J. . and Hooper, D. C.: *Quinolone Antimicrobial Agents*: Am. Soc. Microbiol., Washington, DC, pp. 3 (1993).
- 3) a) Lee, J. W., Kang, T. C., Lee, K. S., Son, H. J., Yoon, G. J., Yu, Y. H. and Kim, D. Y.: Synthesis and antibacterial activity of 7-[(3-methylthio or 3-methylthio methyl)pyrrolidinyl]quinolone-3-carboxylic acids. *J. Pharm. Soc. Korea*, **38**, 197 (1994).
- b) Lee, J. W., Kang, T. C., Lee, K. S., Park, N. J. and Kim, D. Y.: Synthesis and biological activity of 7-(3-amidinopyrrolidinyl)quinolone-3-carboxylic acids. *Korean J. Med. Chem.*, **4**, 35 (1994).
- c) Yu, Y. H., Park, N. J., Kim, B. O., Choi, M. J., Shim, J. S., Kang, T. C., Lee, J. W. and Kim, D. Y.: *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of the new quinolone, DWQ-013, *J. Pharm. Soc. Korea*, **38**, 265 (1994).
- 4) Macdonald, T. L. and Narayanan, B. A.: Pyrrolizidine Alkaloid Synthesis. (±)-Supinidine. *J. Org. Chem.*, **48**, 1129 (1983).
- 5) Greene, T. W. and Wuts, P. G. M.: Protective groups in organic synthesis: John Wiley & Sons, Inc. (1991).
- 6) Sanchez, J. P., Domagala, J. M., Hagen, S. E., Heifetz, C. L., Hutt, M. P., Nichols, J. B., and Trehan, A. K.: Quinolone antibacterial agents. Synthesis and structure-activity relationships of 8-substituted quinolone-3-carboxylic acids and 1,8-naphthyridine-3-carboxylic acids. *J. Med. Chem.*, **31**, 983 (1988).
- 7) Domagala, J. M., Heifetz, C. L., Hutt, M. P., Mich, T. F., Nichols, J. B., Solomon, M., and Worth, D. F.: 1-Substituted 7-[3-[(Ethylamino)-methyl]-1-pyrrolidinyl][6,8-difluoro-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acids. New quantitative structure activity relationships at N1 for the quinolone antibacterials. *J. Med. Chem.*, **31**, 991 (1988).
- 8) Domagala, J. M., Bridges, S. J., Culbertson, T. P., Gambino, L., Hagen, S. E., Karrick, G., Porter, K., Sanchez, J. P., Sesnie, J. A., Spense, F. G., Szotek, D. D., and Wemple, J.: Synthesis and Biological activity of 5-amino-and 5-hydroxyquinolones, and the overwhelming influence of the remote N1-substituent in determining the structure activity relationship. *J. Med. Chem.*, **34**, 1142 (1991).
- 9) Masuzawa, K., Suzue, S., Hirai, K., and Ishizaki, T.: Eur. Pat 0230295 (1987).
- 10) Japan Society of Chemotherapy(日本化学療法學會): 最小發育阻止濃度(MIC) 測定法. *Chemotherapy*, **23**, 1~2 (1975).