

Benzothiazole 고리가 있는 6-엑소메틸렌 펜남 유도체의 합성

임채욱 · 박희석 · 김승재 · 임철부*

중앙대학교 약학대학 의약화학 교실

(Received September 30, 2002; Revised October 10, 2002)

Synthesis of 6-Exomethylene Penams with Benzothiazole Ring

Chaek Im, Hee Suk Park, Seung Jae Kim 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 benzothiazole ring was described. The 6,6-dibromopenam **5** was treated with CH_3MgBr and carbaldehyde **4** to afford the 6-bromo-6-(1-hydroxy-1-methyl)penicillanate **6**, which was reacted with acetic anhydride to give acetoxy compound **7**. The deacetobromination of acetoxy compound **7** with zinc and acetic acid gave 6-exomethylene penams, *Z*-isomer **8** and *E*-isomer **9**, which was oxidized to sulfones **10** by *m*-CPBA. The *p*-methoxybenzyl compounds **6**~**10** were deprotected by AlCl_3 and neutralized to give the sodium salts **11**~**15**.

Keywords □ 6-Exomethylene penam, β -Lactamase Inhibitors

β -Lactam 항생제에 대한 내성균의 출현으로 기존 항생제의 약효가 감소하고 있으며, 가장 일반적인 세균의 내성 기전은 β -lactamase라는 효소를 내성균이 분비하여 항생제의 약효를 제거하는 것이다.¹⁾ 이 효소는 penicillin계 항생제와 cephalosporine계 항생제의 β -lactam ring을 가수분해시켜 치료효과를 나타내지 못하게 한다. 이 효소는 그람음성균, 그람양성균, actinomycetes, blue-green algae등에서 발견되고 있고, plasmid를 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. 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 acid,²⁾ sulbactam³⁾ 및 tazobactam⁴⁾이 개발되어서 현재 Augmentin(clavulanic acid + ampicillin), Timentin(clavulanic acid + ticarcillin), Unasyn

(sulbactam + ampicillin) 및 Tazocine(tazobactam + piperacillin)이 임상에서 사용되고 있다. 최근 β -lactamase 억제제로 6-exomethylene penam 유도체들이 개발되고 있고⁵⁾ 특히, 6-triazolylmethylene penem인 **1**(BRL-42715)^{6,7)}과 **2**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 구조와 **1**과 **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, CDCl₃의 경우 TMS(tetramethylsilane)를 내부 표준물질로 사용하였으며 DMSO-d₆의 경우 잔류하는 DMSO를 내부 표준물질로 사용하였다. TLC는 Merck silica gel 60 F₂₅₄를 사용하였고 Reverse TLC로는 Merck RP-

*본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-820-5599 (팩스) 02-815-2197
(E-mail) yimcb@cau.ac.kr

18F254S 를 사용하였으며, UV Lamp로 spot을 확인하였다. 용점 측정은 B chi Melting point B-540을 사용하였고, IR spectra는 Jasco FT/IR 300E을 사용하여 얻었다. Column chromatography는 silica gel(Merck type 9355, 230-400 mesh)을 사용하였고, 역상 column chromatography는 Comosil 75 C₁₈-OPN을 사용하였다.

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

1-(2-Hydroxyethyl)-1,2,3-triazole-4-carbaldehyde 3 14.40 g (102 mmol)을 무수 dichloromethane 350 ml에 녹인 용액에 triethylamine 14.4 ml를 가한 후, -15~-20°C로 냉각하고 argon gas에서 반응시킨다. 40분 후, trifluoromethanesulfonic anhydride 17.3 ml를 서서히 가하고 -15~-20°C에서 3시간 더 교반한다. 2-Mercaptobenzothiazole 16.80 g (102 mmol)과 triethylamine 14.4 ml를 녹인 dichloromethane 180 ml용액을 상기 반응혼합액에 -15~-20°C에서 40분 동안에 적가한 후, 실온에서 하루 방치한다. 반응혼합물을 dichloromethane으로 추출하고 5% NaCl용액으로 세척한 후, 무수 Na₂SO₄로 건조하고 감압 농축하여 얻은 생성물을 silica gel column 으로 정제하여 화합물 4 10.40 g (39%)을 얻었다: R_f=0.51(dichloromethane : ethylacetate=1:1); mp: 103~104°C; IR(NaCl, neat) 2840, 2780, 1704 cm⁻¹; ¹H-NMR(CDCl₃) δ 3.36(t, 2H, J=6.7Hz), 4.96(t, 2H, J=6.7Hz), 7.33~7.91(m, 4H), 8.27(s, 1H), 10.00 (s, 1H).

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

화합물 5 16.3g (31.68 mmol)을 argon gas에서 무수 THF 300 ml로 녹인 용액에 CH₃MgBr 3.79 g의 ether용액을 가한 후, -78°C에서 20분간 교반한다.

화합물 4 9.15 g (31.68 mmol)을 dichloromethane 200 ml에 녹여서 반응액에 가하고, -78°C에서 12시간 반응한다. 10% NH₄Cl용액을 가하여 반응을 정지시키고 ethylacetate로 추출하여 무수 Na₂SO₄로 건조시킨 후, 감압 농축하여 얻은 생성물을 silica gel column으로 정제하여 화합물 6 7.23 g (31%)을 얻었다: R_f=0.11(hexane : ethylacetate=1:1); IR(NaCl, neat) 3250, 1804, 1753 cm⁻¹; ¹H-NMR(CDCl₃) δ 1.30(s, 3H), 1.59(s, 3H), 3.80~3.90(m, 5H), 4.48(s, 1H), 4.79~4.95(m, 2H), 5.20(s, 1H), 5.40~5.46(m, 1H), 6.80~7.38(m, 4H), 7.40~7.91(m, 4H), 7.93(s, 1H).

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

화합물(6) 6.57 g (9.09 mmol)을 무수 dichloromethane 100 ml에 녹인 용액에 pyridine 9.04g과 acetic anhydride 9.54 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) 5.20 g (75%)을 얻었다: R_f=0.38(hexane : ethylacetate=1:1); IR(NaCl, neat) 1796 cm⁻¹; ¹H-NMR(CDCl₃) 1.35(s, 3H), 1.65(s, 3H), 2.22(s, 3H), 3.90~3.93(m, 5H), 4.38(s, 1H), 4.96~5.04(m, 2H), 5.22~5.25(m, 2H), 5.29(s, 1H), 6.54~6.60 (m, 1H), 6.93~7.03(m, 2H), 7.34~7.57(m, 4H), 7.82~7.87(m, 2H), 7.98(s, 1H).

p-Methoxybenzyl (6Z)-6-[1-[1-[2-(Benzothiazol-2-yl)thioethyl]-1,2,3-triazol-4-yl]methylene]penicillanate 1,1-Dioxide (8)와 p-Methoxybenzyl (6E)-6-[1-[1-[2-(Benzothiazol-2-yl)thioethyl]-1,2,3-triazol-4-yl]methylene]penicillanate 1,1-Dioxide(9)

화합물 7 4.80 g (6.26 mmol)을 CH₃CN 100 ml에 녹이고 acetic acid 1.60 g을 가한 후, Zn분말 4.37 g을 넣고 0°C에서 3 시간 반응하고 고체물질을 여과 제거한다. 반응액을 dichloromethane으로 추출하고 5% NaHCO₃으로 세척한 후, 무수 Na₂SO₄로 건조하고 농축하여 얻은 생성물을 silica gel column 으로 정제하여 화합물 8 1.20 g (31%)과 화합물 9 0.46 g (12%)을 얻었다.

화합물 8 : R_f=0.27(ethylacetate : hexane=1:1); IR(NaCl, neat) 1785, 1612 cm⁻¹; ¹H-NMR(CDCl₃) 1.22(s, 3H), 1.47(s, 3H), 3.54~3.78 (m, 5H), 4.40(s, 1H), 4.82(t, 2H, J=6.9Hz), 5.15(d, 2H, J=5.9Hz), 5.53(s, 1H), 6.86(s, 1H), 6.95(d, 2H, J=5.9Hz), 7.19~7.33(m, 4H), 7.67~7.79(m, 2H), 7.85(s, 1H).

화합물 9 : R_f=0.39(ethylacetate:hexane=1:1); IR(NaCl, neat) 1770, 1612 cm⁻¹; ¹H-NMR(CDCl₃) 1.31(s, 3H), 1.76(s, 3H), 3.86~4.04(m, 5H), 4.45(s, 1H), 4.90~4.97(m, 2H), 5.16~5.19(m, 2H), 5.37(s, 1H), 6.86~6.93(m, 2H), 7.18(s, 1H), 7.26~7.46(m, 4H), 7.72~7.98(m, 2H), 8.78(s, 1H).

p-Methoxybenzyl (6Z)-6-[1-[1-[2-(Benzothiazol-2-yl) sulfonylethyl]-1,2,3-triazol-4-yl]methylene]penicillanate 1,1-Dioxide(10)

화합물 8 0.75 g (1.21 mmol)을 dichloromethane 20 ml에 녹이고, m-chloroperbenzoic acid (m-CPBA) 0.62 g(3.62 mmol)을 넣고 상온에서 20시간 동안 반응시킨다. 반응액을 5% NaHCO₃용액과 물로 세척하고 무수 Na₂SO₄로 건조시킨 후, silica gel column으로 정제하여 화합물 10을 0.46 g (58%)얻었다:

$R_f=0.26$ (hexane : ethylacetate=1:1); IR(NaCl, neat) 1784, 1613, 1325 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 1.41(s, 3H), 1.65(s, 3H), 3.81(s, 3H), 4.12~4.19(m, 2H), 4.42(s, 1H), 5.00~5.06(m, 2H), 5.11~5.15(m, 2H), 5.45(s, 1H), 6.86~6.95(m, 2H), 7.08(s, 1H), 7.29~7.39(m, 2H), 7.54~7.96(m, 4H), 8.12(s, 1H).

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

화합물 6 0.25 g (0.36 mmol)을 무수 dichloromethane 8 ml 과 anisole 4 ml에 녹여 N_2 gas에서 -40°C 로 냉각하고, 무수 AlCl_3 0.62 g을 넣고 반응시킨다. 1시간 후, 물을 넣어 반응을 중지시키고 0.1N NaOH용액으로 pH를 7.0으로 조절한다. 수층을 역상 column으로 정제하여 얻은 용액을 동결 건조하여 화합물 11 0.13 g을 (58%) 얻었다: $R_f=0.74$ (water:acetonitrile=1:2); IR(Nujol) 1783 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-d}_6)$ δ 1.40(s, 3H), 1.48(s, 3H), 3.90(t, 2H, $J=6.8\text{Hz}$), 3.96(s, 1H), 4.86(t, 2H, $J=6.8\text{Hz}$), 5.17(s, 1H), 5.42(s, 1H), 7.36~7.52(m, 4H), 8.29(s, 1H)

위와 같은 방법으로 PMB ester 화합물인 7, 8, 9, 10을 원료로 사용하여 화합물 12, 13, 14, 15를 합성하였다.

Sodium 6-Bromo-6-[1-acetoxy-1-[1-[2-(benzothiazol-2-yl)thioethyl]-1,2,3-triazol-4-yl]methyl]penicillanate 1,1-Dioxide (12)

화합물 7 0.22 g (0.29 mmol)을 원료로 하여 화합물 11과 동일한 방법으로 실험하여 화합물 12 0.15 g을 얻었다.

78% 수득율: $R_f=0.81$ (water:acetonitrile=1:2); IR(Nujol) 1784 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-d}_6)$ δ 1.30(s, 3H), 1.44(s, 3H), 2.2(s, 3H), 3.90(t, 2H, $J=6.9\text{Hz}$), 4.06(s, 1H), 4.85(t, 2H, $J=6.9\text{Hz}$), 4.99(s, 1H), 6.39(s, 1H), 7.36~7.47(m, 4H), 8.34(s, 1H).

Sodium (6Z)-6-[1-[1-[2-(Benzothiazol-2-yl)thioethyl]-1,2,3-triazol-4-yl]methylene]penicillanate 1,1-Dioxide(13)

화합물 8 0.46 g (0.74 mmol)을 원료로 하여 화합물 11과 동일한 방법으로 실험하여 화합물 13 0.14 g을 얻었다.

30% 수득율: $R_f=0.69$ (water : acetonitrile=1:2); IR(Nujol) 1778 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-d}_6)$ δ 1.38(s, 3H), 1.44(s, 3H), 3.81(s, 1H), 3.91(t, 2H, $J=6.8\text{Hz}$), 4.91(t, 2H, $J=6.8\text{Hz}$), 5.72(s, 1H), 6.85(s, 1H), 7.36~7.53(m, 4H), 8.46(s, 1H).

Sodium (6E)-6-[1-[1-[2-(Benzothiazol-2-yl)thioethyl]-1,2,3-triazol-4-yl]methylene]penicillanate 1,1-Dioxide(14)

화합물 9 0.21 g (0.40 mmol)을 원료로 하여 화합물 11과 동일한 방법으로 합성하여 화합물 14 0.07 g을 얻었다.

40% 수득율: $R_f=0.75$ (water : acetonitrile=1:2); IR(Nujol) 1760 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-d}_6)$ δ 1.37(s, 3H), 1.45(s, 3H), 3.79(s, 1H), 3.90(t, 2H, $J=6.6\text{Hz}$), 4.94(t, 2H, $J=6.6\text{Hz}$), 5.53(s, 1H), 7.05(s, 1H), 7.36~7.52(m, 4H), 8.85(s, 1H).

Sodium (6Z)-6-[1-[1-[2-(Benzothiazol-2-yl)sulfonyl]ethyl]-1,2,3-triazol-4-yl]methylene]penicillanate 1,1-Dioxide(15)

화합물 10 0.45 g (0.69 mmol)을 원료로 하여 화합물 11과 동일한 방법으로 합성하여 화합물 15 0.19 g을 얻었다.

50% 수득율: $R_f=0.79$ (water : acetonitrile=1:2); IR(Nujol) 1783 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-d}_6)$ δ 1.39(s, 3H), 1.44(s, 3H), 4.49(s, 1H), 4.50~4.58(m, 2H), 4.82~5.12(m, 2H), 5.47(s, 1H), 7.02(s, 1H), 7.71~7.83(m, 4H), 8.38(s, 1H).

결과 및 고찰

이미 보고된 방법을 이용하여 sodium azide와 2-bromoethanol을 반응시켜 2-azidoethanol을 합성하고,¹⁰⁾ propargyl alcohol을

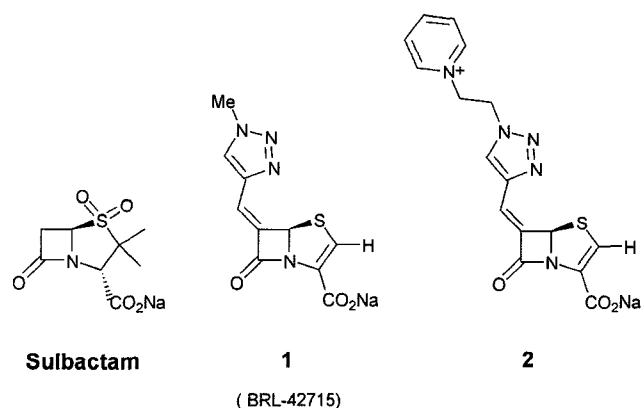
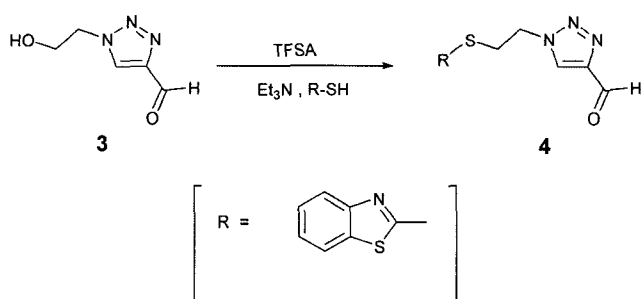


Fig. 1 – Structure of β -Lactamase Inhibitors.



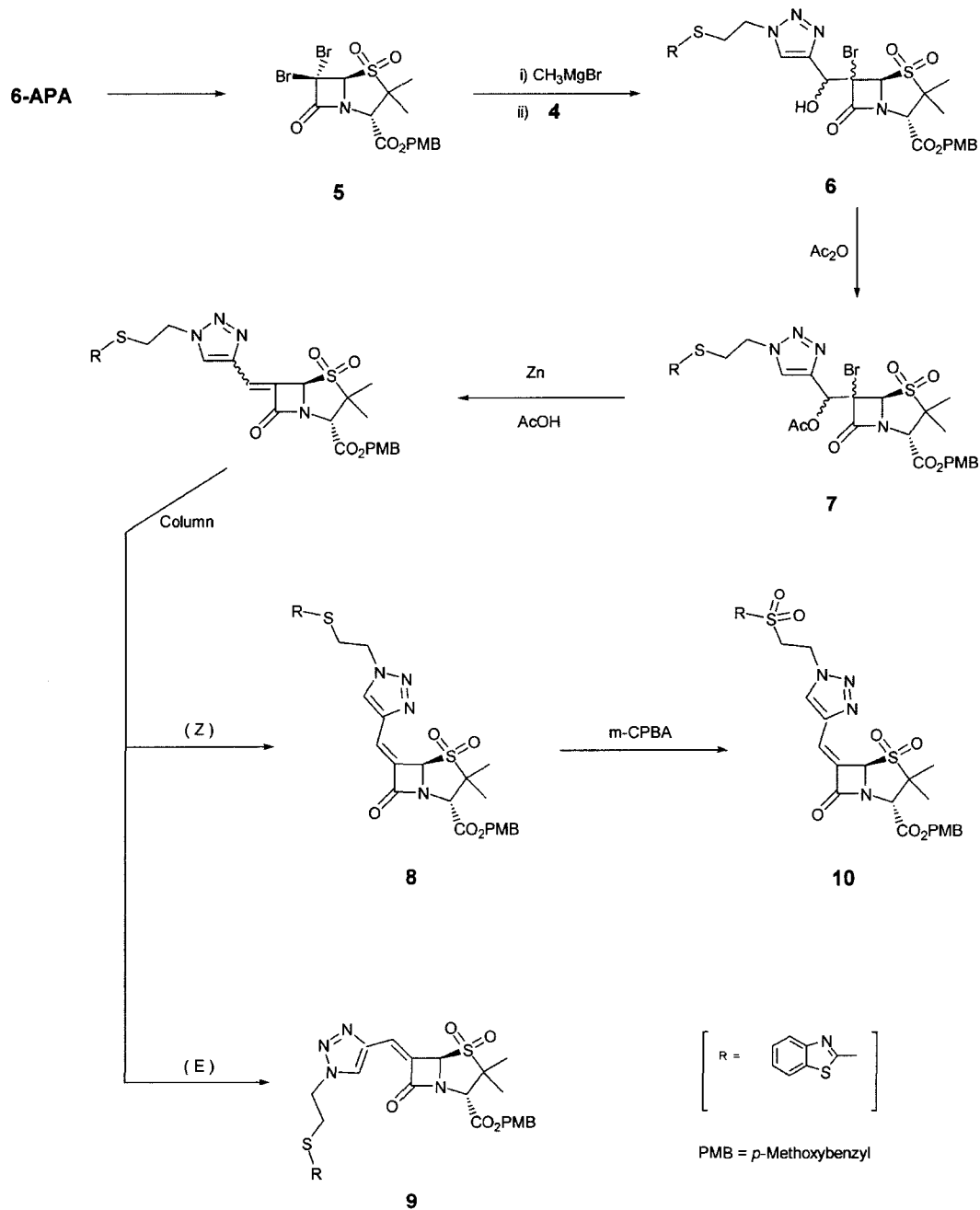
TFSA = Trifluoromethanesulfonic anhydride

Scheme 1 – Synthesis of 1-(Substituted thioethyl)-1,2,3-triazole-4-carbaldehyde.

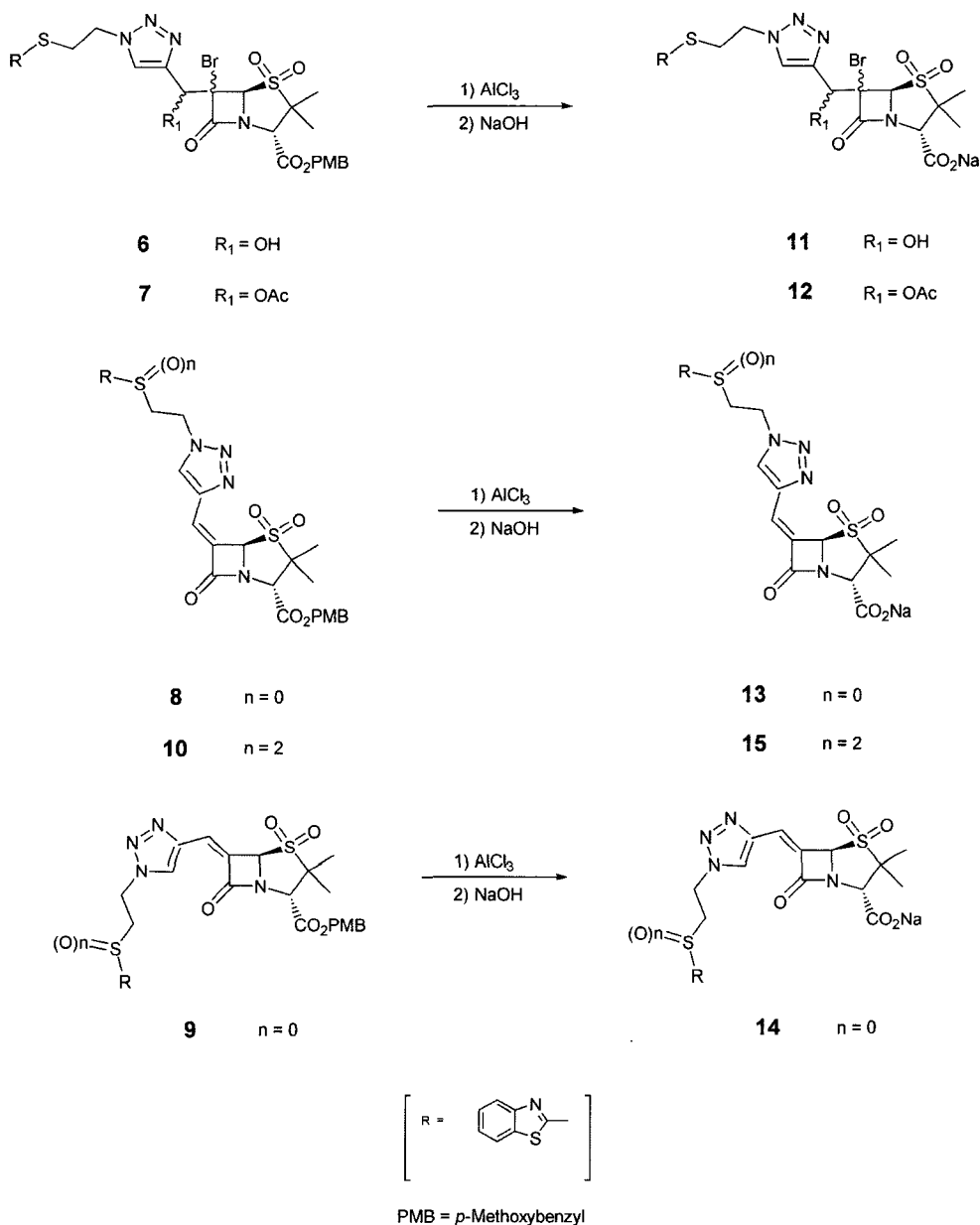
CrO₃로 산화시켜 propargyl aldehyde를 만들었다.¹¹⁾ 2-azidoethanol과 propargyl aldehyde를 반응시켜 1-(2-hydroxyethyl)-1,2,3-triazole-4-carboxaldehyde **3**을 합성하였고,⁸⁾ trifluoromethanesulfonic anhydride(TFSA)로 처리하여 trifluorosulfonyl 유도체로 만든 후, thiol 화합물과 반응시켜 2-치환 thioethyl 화합물 **4**를 39%의 수득율로 합성하였다(Scheme 1).

6,6-Dibromopenam 화합물 **5**를 CH₃MgBr로 처리한 후, carbaldehyde 화합물 **4**와 반응하여 hydroxy 화합물 **6**을 31%의

수득율로 얻었고, 화합물 **6**을 acetic anhydride로 처리하여 acetoxy화합물 **7**을 75%의 수득율로 얻었다. 화합물 **7**을 acetic acid와 Zn으로 처리하여 penam sulfone의 6번 위치에 exomethylene의 2중 결합을 도입하였고, Z-isomer와 E-isomer는 각각 31%와 12%의 수득율로 얻었다. E-isomer에서 triazole 링의 수소는 β-lactam링의 carbonyl기와 가까이 있기 때문에 ¹H-NMR 스펙트럼에서 carbonyl기의 anisotropic 효과에 의하여 peak가 왼쪽으로 이동하였다(δ 8.78). 그러나, Z-isomer에서



Scheme 2 – Synthesis of 6-Exomethylene Penams.



Scheme 3 – Synthesis of 6-Exomethylene Penam Sodium Salts.

triazole 링의 수소는 carbonyl기와 멀리 떨어져 있어서 anisotropic 효과의 영향을 받지 않았다(δ 7.85). 비슷한 결과를 sulfon기 화합물 **10**에서도 발견하였다(Scheme 2).

p-Methoxy ester 화합물 **6~10**은 AlCl_3 로 처리하여 free carboxylic 화합물로 만든 후, 0.1N NaOH 용액을 사용하여 pH를 7.0으로 조절하여 sodium salt 용액을 만들었다(Scheme 3). β -Lactam 고리는 염기에 약하기 때문에 pH 조절에 0.1N NaOH 용액으로 조금씩 적정하였다. 이렇게 얻은 sodium salt 용액을 동결건조하고 역상column으로 정제한 후, 다시 동결 건조하여 화합물 **11~15**을 30~78%의 수득율로 합성하였다.

문 헌

- 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-[(1,2,3-triazol-1-yl)methyl]-2-methylpenam-3-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)methylene-penicillanic 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).