

## 6-(티에닐메틸렌)페남 설펜의 합성과 $\beta$ -Lactamase 저해활성

김동현 · 프리탐다빠 · 라다갈끼 · 장영동 · 이응석<sup>#</sup>

영남대학교 약학대학

(Received September 13, 2007; Revised October 2, 2007)

## Synthesis of 6-(Thienylmethylene)penam Sulfones and their $\beta$ -Lactamase Inhibitory Activities

Dong Hyeon Kim, Pritam Thapa, Radha Karki, Yurngdong Jahng and Eung-Seok Lee<sup>#</sup>

College of Pharmacy, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea

**Abstract** — The resistance of bacteria against  $\beta$ -lactam antibiotics is mainly caused by the production of  $\beta$ -lactamase enzymes.  $\beta$ -Lactamase inhibitors are used in combination with known antibiotics to overcome the growing problem of bacterial resistance. We prepared 6-(thienylmethylene)penam sulfones for the development of potent  $\beta$ -lactamase inhibitors and evaluated their  $\beta$ -lactamase inhibitory activities.

**Keywords** □  $\beta$ -lactamase inhibitor, sulbactam, bacterial resistance, 6-(thienylmethylene)penam sulfone

항균제로서 세균의 세포벽합성에 필요한 효소인 transpeptidase를 불활성화 함으로서 세포벽합성을 저해하여 항생효과를 나타내는  $\beta$ -lactam계 항생제를 전 세계적으로 가장 많이 사용하고 있으나 내성의 발현이 가장 큰 문제점으로 되어 있다. 내성 발현의 원인으로는 항생제에 대한 세균의 세포막 투과성 변화와 항생제가 작용하는 효소의 항생제에 대한 감수성 저하 및  $\beta$ -lactamase의 생성으로 항생제의  $\beta$ -lactam ring을 가수분해함으로써 작용을 상실시키는 등의 보고가 있다.<sup>1)</sup> 그 중  $\beta$ -lactamase에 의한 내성 발현이 가장 큰 주원인으로 알려져 있으며<sup>2,3)</sup>  $\beta$ -lactamase는 그 분자 구조에 따라 일반적으로 type I, II, III, IV 등 4군으로 분류되어 있다. 따라서  $\beta$ -lactam계 항생제의 내성 발현의 극복을 위하여  $\beta$ -lactamase 저해제를 사용하여 항생활성의 효능을 증가시키고자 하는 연구가 이루어지고 있다.  $\beta$ -Lactamase 저해제로서 clavulanic acid(1)가 발견된 후 sulbactam(2), tazobactam(3) 및 유도체 등이 저해활성을 나타낸다고 알려져 있으며, 상기  $\beta$ -lactamase 저해제들은  $\beta$ -lactamase의 type I, II, III, IV 등 4군으로 분류된 효소에 작용 선택성을 나타내는 것으로 보고되어 있다.<sup>4)</sup> 또한  $\beta$ -lactamase 저해제는 자체의 항생 활성은 거의 없으며  $\beta$ -lactamase에 대하여 mechanism-based inhibitor로서 작용

하고,<sup>1)</sup> 임상적으로  $\beta$ -lactam계 항생제와 복합하여 사용되고 있다. 이에 본 연구진은 새로운  $\beta$ -lactamase 저해제 개발을 위하여 sulbactam의 구조에 기본을 둔 6-(티에닐메틸렌)페남 설펜 유도체(4), 즉 6번 위치에 thiophene 및 그 치환체들이 conjugation된 구조를 도입한 물질을 설계, 합성하고 그의  $\beta$ -lactamase 저해 활성 및 항균활성을 측정하였다. Sulbactam의 골격에서 6번 위치에 exomethylene이 도입된 화합물은  $\beta$ -lactamase와 상호작용하는 과정에서 보다 우수한 저해활성을 나타냄이 보고되어 있으며,<sup>5,6)</sup> exomethylene에 thiophene 등의 헤테로 고리화합물을 치환하여 전체적으로 conjugation을 이루도록 함으로써 보다 안정한 enzyme-inhibitor complex를 형성할 수 있도록 하여, 더욱 우수한 저해활성을 나타낼 것으로 기대하여 설계, 합성하였다.

### 실험 방법

#### 시약 및 기기

본 실험에 사용한 시약은 Aldrich Chemical Co.와 Fluka, Junsei 등의 전문 시약 회사 제품을 사용하였다. 무수 상태에서 실험해야 할 경우, 반응 용기는 110°C에서 건조하여 사용하였고, argon gas로 치환된 상태에서 반응하였으며 액체 시료는 syringe를 이용하여 적가하고, 용매는 실험하기 바로 전에 CaH<sub>2</sub>로 증류하여 사용하였다. 합성된 화합물의 정제는 work-up processing 이외에 silicagel(Kieselgel 60, Merk)을 고정상으로 하여 column

<sup>#</sup>본 논문에 관한 문의는 저자에게로  
(전화) 053-810-2827 (팩스) 053-810-4654  
(E-mail) eslee@yu.ac.kr

chromatography를 하였다. Thin layer chromatography(TLC)는 Merck사의 Kieselgel 60 F<sub>254</sub>를 이용하였고, spot은 자외선으로 확인하였다. NMR(nuclear magnetic resonance) spectra는 tetramethylsilane을 내부 표준 물질로 하여 별도의 언급이 없는 경우에는 CDCl<sub>3</sub> 및 DMSO-*d*<sub>6</sub>를 용매로 하여 Bruker ARX 300 (300 MHz, FT)으로 측정하였다.

#### 합성방법

***p*-Methoxybenzyl 6-bromo-6-[1-hydroxy-1-(5-methyl-2-thienyl)methyl]penicillate 1,1-dioxide(6a)** - *p*-Methoxybenzyl 6,6-dibromopenicillate sulfone(5, 1.0 g, 1.96 mmol)을 무수 THF(10 ml)에 녹인 후 -78°C로 냉각하여 무수 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>에 녹아 있는 3.0 M CH<sub>3</sub>MgBr(0.65 ml, 1.96 mmol)을 주사기를 통하여 천천히 적가하였다. -78°C에서 30분간 교반한 후, 무수 THF(3.0 ml)에 녹인 5-methyl-2-thiophenecarboxaldehyde(211 μl, 1.96 mmol) 용액을 알곤 하에서 주사기를 통하여 천천히 적가하고 -78°C에서 30분간 교반하였다. 초산(112 μl, 1.96 mmol)을 가한 후 온도를 점진적으로 상온으로 올리고 1시간 동안 교반하였다. 증류수(30 ml)를 가하여 반응을 멈춘 후 EtOAc(50 ml)로 유기층을 분리하였고, 유기층을 1 M HCl 용액(20 ml), 5% NaHCO<sub>3</sub> 용액(20 ml), 증류수(20 ml), 포화식염수(20 ml)로 세척한 후, 무수 MgSO<sub>4</sub>로 건조하고 감압농축하였다. 잔류물을 column chromatography(EtOAc/*n*-hexane=1:3, v:v)로 정제하여 미색의 foam 형태의 diastereomer 혼합물(1.02 g, 92.8%)을 얻었다.

TLC(EtOAc/*n*-hexane=1:3, v:v), R<sub>f</sub>=0.10, 0.15

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ 1.20(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.51(3H, s, CH<sub>3</sub>), 2.53(3H, sd, *J*=1.0 Hz, thienyl CH<sub>3</sub>), 2.81(1H, d, *J*=5.7 Hz, -OH), 3.82(3H, s, OCH<sub>3</sub>), 4.53(1H, s, H<sub>3</sub>), 4.68(1H, s, H<sub>5</sub>), 5.10(1H, d, *J*=11.8 Hz, benzylic H), 5.29(1H, d, *J*=11.8 Hz, benzylic H), 6.01(1H, d, *J*=5.7 Hz, H<sub>8</sub>), 6.67(1H, dd, *J*=3.6 Hz, *J*=1.0 Hz, thienyl H<sub>10</sub>), 6.88(2H, d, *J*=8.7 Hz, benzene), 7.01(1H, d, *J*=3.6 Hz, thienyl H<sub>9</sub>), 7.32(2H, d, *J*=8.7 Hz, benzene).

***p*-Methoxybenzyl 6-bromo-6-[1-hydroxy-1-(5-chloro-2-thienyl)methyl]penicillate 1,1-dioxide(6b)** - 중간체 *p*-methoxybenzyl 6,6-dibromopenicillate sulfone(5, 1.39 g, 2.71 mmol)과 5-chloro-2-thiophenecarboxaldehyde(397 mg, 2.71 mmol)를 사용하여 화합물 6a와 동일한 방법으로 합성하고, column chromatography(EtOAc/*n*-hexane=1:3, v:v, gradient elution)로 정제하여 미색의 foam 형태로 diastereomer 혼합물(530 mg, 34.0%)을 얻었다.

TLC(EtOAc/*n*-hexane=1:2, v:v), R<sub>f</sub>=0.28, 0.29

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ 1.21(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.54(3H, s, CH<sub>3</sub>), 2.84(1H, d, *J*=5.0 Hz, OH), 3.82(3H, s, OCH<sub>3</sub>), 4.53(1H, s, H<sub>3</sub>), 4.74(1H, s, H<sub>5</sub>), 5.12(1H, d, *J*=11.6 Hz, benzylic H),

5.29(1H, d, *J*=11.6 Hz, benzylic H), 6.03(1H, d, *J*=5.0 Hz, H<sub>8</sub>), 6.85(1H, d, *J*=3.7 Hz, thienyl H), 6.90(2H, d, *J*=8.6 Hz, benzene) 7.02(1H, d, *J*=3.7 Hz, thienyl H), 7.32(2H, d, *J*=8.6 Hz, benzene).

***p*-Methoxybenzyl 6-bromo-6-[1-hydroxy-1-(3-chloro-2-thienyl)methyl]penicillate 1,1-dioxide(6c)** - 중간체 *p*-methoxybenzyl 6,6-dibromopenicillate sulfone(5, 1.31 g, 2.56 mmol)과 3-chloro-2-thiophenecarboxaldehyde(375 mg, 2.56 mmol)를 사용하여 화합물 6a와 동일한 방법으로 합성하고, column chromatography(EtOAc/*n*-hexane=1:3, v:v, gradient elution)로 정제하여 미색의 foam형태로 diastereomer 혼합물(650 mg, 43.9%)을 얻었다.

TLC(EtOAc/*n*-hexane=1:2, v:v), R<sub>f</sub>=0.09, 0.11

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ 1.17(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.48(3H, s, CH<sub>3</sub>), 3.21(1H, d, *J*=6.7 Hz, OH), 3.79(3H, s, OCH<sub>3</sub>), 4.48(1H, s, H<sub>3</sub>), 4.92(1H, s, H<sub>5</sub>), 5.09(1H, d, benzylic H), 5.31(1H, d, benzylic H), 6.13(1H, d, *J*=6.7 Hz, H<sub>8</sub>), 6.89(2H, d, *J*=8.6 Hz, benzene), 7.01(1H, d, *J*=5.3 Hz, thienyl H<sub>9</sub>), 7.32(2H, d, *J*=8.6 Hz, benzene), 7.39(1H, d, *J*=5.3 Hz, thienyl H<sub>10</sub>).

***p*-Methoxybenzyl 6-bromo-6-[1-hydroxy-1-(4-methoxy-2-thienyl)methyl]penicillate 1,1-dioxide(6d)** - 중간체 *p*-methoxybenzyl 6,6-dibromopenicillate sulfone(5, 381 mg, 0.75 mmol)과 4-methoxy-2-thiophenecarboxaldehyde(106 mg, 0.75 mmol)를 사용하여 화합물 6a와 동일한 방법으로 합성하고, column chromatography(EtOAc/*n*-hexane=1:3, v:v, gradient elution)로 정제하여 연노랑색의 foam형태의 목적화합물(330 mg, 76.1%)을 diastereomer 혼합물로 얻었다.

TLC(EtOAc/*n*-hexane=1:1, v:v), R<sub>f</sub>=0.45, 0.46

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ 1.21(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.54(3H, s, CH<sub>3</sub>), 3.78(3H, s, thienyl OCH<sub>3</sub>), 3.82(3H, s, OCH<sub>3</sub>), 4.53(1H, s, H<sub>3</sub>), 4.77(1H, s, H<sub>5</sub>), 5.12(1H, d, *J*=11.6 Hz, benzylic H), 5.29(1H, d, *J*=11.6 Hz, benzylic H), 6.00(1H, s, H<sub>8</sub>), 6.28(1H, thienyl H), 6.90(3H, m, *J*=8.5 Hz, benzene 2H, thienyl H), 7.32(2H, d, *J*=8.5 Hz, benzene).

***p*-Methoxybenzyl 6-bromo-6-[1-hydroxy-1-(3-thienyl)methyl]penicillate 1,1-dioxide(6e)** - 중간체 *p*-methoxybenzyl 6,6-dibromopenicillate sulfone(5, 1.0 g, 1.96 mmol)과 3-thiophenecarboxaldehyde(220 mg, 1.96 mmol)를 사용하여 화합물 6a와 동일한 방법으로 합성하여 연노랑색 foam 형태의 화합물(939 mg, 88.0%)을 얻었고 더 이상의 정제 과정 없이 다음 반응에 사용하였다.

TLC(EtOAc/*n*-hexane=1:2, v:v), R<sub>f</sub>=0.09, 0.13

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ 1.22(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.56(3H, s, CH<sub>3</sub>), 3.82(3H, s, OCH<sub>3</sub>), 4.55(1H, s, H<sub>3</sub>), 4.73(1H, s, H<sub>5</sub>), 5.12

(1H, d,  $J=11.0$  Hz, benzylic H), 5.29(1H, d,  $J=11.0$  Hz, benzylic H), 5.97(1H, d,  $J=4.4$  Hz,  $H_3$ ), 6.91(2H, d,  $J=8.7$  Hz, benzene) 7.38~7.22(4H, m, benzene 2H, thienyl 2H), 7.53(1H, thienyl H).

***p*-Methoxybenzyl 6-bromo-6-[1-hydroxy-1-(5-methyl-2-furyl)methyl]penicillate 1,1-dioxide(6f)** – 중간체 *p*-methoxybenzyl 6,6-dibromopenicillate sulfone(**5**, 1.0 g, 1.96 mmol) 과 2-thiophenecarboxaldehyde(220 mg, 1.96 mmol)를 사용하여 화합물 **6a**와 동일한 방법으로 합성하여 연노랑색 foam 형태의 화합물(927 mg, 86.6%)을 얻었고 더 이상의 정제 과정 없이 다음 반응에 사용하였다.

TLC(EtOAc/*n*-hexane=1:2, v:v),  $R_f=0.15, 0.18$

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$   $\delta$  1.23(3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 1.53(3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 1.60(1H, br, OH), 3.82(3H, s,  $\text{OCH}_3$ ), 4.57(1H, s,  $H_3$ ), 4.74(1H, s,  $H_3$ ), 5.11(1H, d,  $J=11.0$  Hz, benzylic H), 5.28(1H, d,  $J=11.0$  Hz, benzylic H), 6.12(1H, d,  $J=4.4$  Hz,  $H_3$ ), 6.90(2H, d,  $J=8.7$  Hz, benzene) 6.98~7.38(4H, m, benzene 2H, thienyl 2H), 7.53(1H, thienyl H).

***p*-Methoxybenzyl 6-bromo-6-[1-hydroxy-1-(3-methyl-2-thienyl)methyl]penicillate 1,1-dioxide(6g)** – 중간체 *p*-methoxybenzyl 6,6-dibromopenicillate sulfone(**5**, 1.0 g, 1.96 mmol)과 3-methyl-2-thiophenecarboxaldehyde(211 mg, 1.96 mmol)를 사용하여 화합물 **6a**와 동일한 방법으로 합성하여 미색의 점도높은 오일상 화합물(880 mg, 80.5%)을 얻었고 더 이상의 정제 과정 없이 다음 반응에 사용하였다.

TLC(EtOAc/*n*-hexane=1:3, v:v),  $R_f=0.18, 0.20$

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$   $\delta$  1.31(3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 1.58(3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 2.29(3H, sd,  $J=1.0$  Hz, thienyl  $\text{CH}_3$ ), 2.81(1H, d,  $J=5.7$  Hz, -OH), 3.77(3H, s,  $\text{OCH}_3$ ), 4.59(1H, s,  $H_3$ ), 5.01(1H, s,  $H_5$ ), 5.18(1H, d,  $J=11.8$  Hz, benzylic H), 5.27(1H, d,  $J=11.8$  Hz, benzylic H), 5.61(1H, d,  $J=5.7$  Hz,  $H_3$ ), 6.67(1H, dd,  $J=3.6$  Hz,  $J=1.0$  Hz, thienyl  $H_{10}$ ), 6.88(2H, d,  $J=8.7$  Hz, benzene), 7.21(1H, d,  $J=3.6$  Hz, thienyl  $H_9$ ), 7.32(2H, d,  $J=8.7$  Hz, benzene).

***p*-Methoxybenzyl 6-bromo-6-[1-acetoxy-1-(5-methyl-2-thienyl)methyl]penicillate 1,1-dioxide(7a)** – 합성된 중간체 **6a**(845 mg, 1.51 mmol)를 무수 THF(15 ml)에 녹인 후 acetic anhydride(1.2 ml, 7.55 mmol)와 pyridine(1.25 ml, 9.06 mmol)을 알곤 하에서 주사기를 통하여 적가하고 상온에서 16시간 교반하였다. 반응액을 감압농축하여 용매(THF)를 제거한 후 남은 잔사를 EtOAc(50 ml)로 희석하여 유기층을 추출하고 1 M HCl(40 ml)과 5%  $\text{NaHCO}_3$ (40 ml), 포화식염수(20 ml)로 세척하였다.  $\text{MgSO}_4$ 로 건조하고 여과한 후 감압농축하고 얻은 잔사를 high vacuum으로 완전 건조하여 연노랑색의 foam(910 mg)을 정량적

으로 얻었고 더 이상의 정제과정 없이 다음 반응으로 진행하였다.

TLC(EtOAc/*n*-hexane=1:3, v:v),  $R_f=0.30, 0.31$

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$   $\delta$  1.21(3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 1.48(3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 2.18(3H, s,  $\text{COCH}_3$ ), 2.52(3H, d,  $J=1.1$  Hz, thienyl  $\text{CH}_3$ ), 3.79(3H, s,  $\text{OCH}_3$ ), 4.47(1H, s,  $H_3$ ), 4.71(1H, s,  $H_5$ ), 5.11(1H, d,  $J=11.8$  Hz, benzylic H), 5.28(1H, d,  $J=11.8$  Hz, benzylic H), 6.52(1H, s,  $H_3$ ), 6.71(1H, dd,  $J=3.6$  Hz,  $J=1.1$  Hz, thienyl  $H_{10}$ ), 6.89(2H, dd,  $J=8.7$  Hz, benzene), 7.21(1H, d,  $J=3.6$  Hz, thienyl H), 7.32(2H, d,  $J=8.7$  Hz, benzene).

***p*-Methoxybenzyl 6-bromo-6-[1-acetoxy-1-(5-chloro-2-thienyl)methyl]penicillate 1,1-dioxide(7b)** – 합성된 중간체 **6b**(530 mg, 0.92 mmol)를 사용하여 화합물 **7a**와 동일한 방법으로 합성하여 연노랑색 foam 형태의 화합물(490 mg, 85.8%)을 얻었으며, 더 이상의 정제과정 없이 다음 반응에 사용하였다.

TLC(EtOAc/*n*-hexane=1:2, v:v),  $R_f=0.32, 0.38$ .

***p*-Methoxybenzyl 6-bromo-6-[1-acetoxy-1-(3-chloro-2-thienyl)methyl]penicillate 1,1-dioxide(7c)** – 합성된 중간체 **6c**(530 mg, 0.92 mmol)를 사용하여 화합물 **7a**와 동일한 방법으로 합성하여 연노랑색 foam 형태의 화합물(530 mg, 87.1%)을 얻었으며, 더 이상의 정제과정 없이 다음 반응에 사용하였다.

TLC(EtOAc/*n*-hexane=1:2, v:v),  $R_f=0.25, 0.26$ .

***p*-Methoxybenzyl 6-bromo-6-[1-acetoxy-1-(4-methoxy-2-thienyl)methyl]penicillate 1,1-dioxide(7d)** – 합성된 중간체 **6d**(330 mg, 0.57 mmol)를 사용하여 화합물 **7a**와 동일한 방법으로 합성하고 연노랑색 foam 형태의 화합물(350 mg)을 정량적으로 얻었으며, 더 이상의 정제과정 없이 다음 반응에 사용하였다.

TLC(EtOAc/*n*-hexane=1:2, v:v),  $R_f=0.37, 0.40$

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$   $\delta$  1.21(3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 1.54(3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 2.20(3H, s,  $\text{COCH}_3$ ), 3.78(3H, s, thienyl  $\text{OCH}_3$ ), 3.82(3H, s,  $\text{OCH}_3$ ), 4.53(1H, s,  $H_3$ ), 4.77(1H, s,  $H_5$ ), 5.12(1H, d,  $J=11.8$  Hz, benzylic H), 5.29(1H, d,  $J=11.8$  Hz, benzylic H), 6.00(1H, s,  $H_3$ ), 6.28(1H, d,  $J=1.7$  Hz, thienyl H), 6.90(3H, m,  $J=8.7$  Hz, benzene 2H, thienyl H), 7.32(2H, d,  $J=8.7$  Hz, benzene).

***p*-Methoxybenzyl 6-bromo-6-[1-acetoxy-1-(3-thienyl)methyl]penicillate 1,1-dioxide(7e)** – 합성된 중간체 **6e**(917 mg, 1.68 mmol)를 화합물 **7a**와 동일한 방법으로 합성하여 연노랑색 foam 형태의 화합물(866 mg, 88.0%)을 얻었으며, 더 이상의 정제과정 없이 다음 반응에 사용하였다.

TLC(EtOAc/*n*-hexane=1:2, v:v),  $R_f=0.38, 0.40$ .

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$   $\delta$  1.23(3H, q,  $\text{CH}_3$ ), 1.52(3H, q,  $\text{CH}_3$ ), 2.12(3H, q,  $\text{COCH}_3$ ), 3.83(3H, s,  $\text{OCH}_3$ ), 4.40(1H, s,  $H_3$ ), 4.77(1H, s,  $H_5$ ), 5.11(1H, d,  $J=11.8$  Hz, benzylic H), 5.25(1H, d,  $J=11.8$  Hz, benzylic H), 6.02(1H, s,  $H_3$ ), 6.25(1H, d,  $J=$

1.7 Hz, thienyl H), 6.94(4H, m,  $J=8.7$  Hz, benzene 2H, thienyl 2H), 7.31(2H, d,  $J=8.7$  Hz, benzene).

**p-Methoxybenzyl 6-bromo-6-[1-acetoxy-1-(2-thienyl)methyl]penicillate 1,1-dioxide(7f)** – 합성된 중간체 **6f**(917 mg, 1.68 mmol)를 화합물 **7a**와 동일한 방법으로 합성하여 연노랑색 foam 형태의 화합물(920 mg, 91.2%)을 얻었으며, 더 이상의 정제과정 없이 다음 반응에 사용하였다.

TLC(EtOAc/*n*-hexane=1:2, v:v),  $R_f=0.23, 0.28$

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$   $\delta$  1.18~1.28(3H, q,  $\text{CH}_3$ ), 1.54(3H, q,  $\text{CH}_3$ ), 2.13(3H, q,  $\text{COCH}_3$ ), 3.82(3H, s,  $\text{OCH}_3$ ), 4.40(1H, s,  $\text{H}_3$ ), 4.78(1H, s,  $\text{H}_5$ ), 5.11(1H, d,  $J=11.8$  Hz, benzylic H), 5.25(1H, d,  $J=11.8$  Hz, benzylic H), 6.01(1H, s,  $\text{H}_8$ ), 6.27(1H, d,  $J=1.7$  Hz, thienyl H), 6.92(4H, m,  $J=8.7$  Hz, benzene 2H, thienyl 2H), 7.31(2H, d,  $J=8.7$  Hz, benzene).

**pp-Methoxybenzyl 6-bromo-6-[1-acetoxy-1-(3-methyl-2-thienyl)methyl]penicillate 1,1-dioxide(7g)** – 합성된 중간체 **6g**(845 mg, 1.51 mmol)를 화합물 **7a**와 동일한 방법으로 합성하여 연노랑색 foam 형태의 화합물(940 mg, 정량적)을 얻었으며, 더 이상의 정제과정 없이 다음 반응에 사용하였다.

TLC(EtOAc/*n*-hexane=1:3, v:v),  $R_f=0.25, 0.29$

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$   $\delta$  1.11(3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 1.51(3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 2.18(3H, s,  $\text{COCH}_3$ ), 2.52(3H, d,  $J=1.1$  Hz, thienyl  $\text{CH}_3$ ), 3.81(3H, s,  $\text{OCH}_3$ ), 4.41(1H, s,  $\text{H}_3$ ), 4.72(1H, s,  $\text{H}_5$ ), 5.10(1H, d,  $J=11.8$  Hz, benzylic H), 5.31(1H, d,  $J=11.8$  Hz, benzylic H), 6.90(2H, dd,  $J=8.7$  Hz, benzene), 7.32(2H, d,  $J=8.7$  Hz, benzene), 7.45(1H, d,  $J=3.6$  Hz, thienyl H), 7.78(1H, d,  $J=3.6$  Hz, thienyl H).

**p-Methoxybenzyl 6-[1-(5-methyl-2-thienyl)methylene]penicillate 1,1-dioxide(8a)** – 중간체 **7a**(962 mg, 1.6 mmol)를 acetonitrile(17 ml)에 녹인 후 acetic acid(1.83 ml, 32 mmol)와 Zn dust(523 mg, 8 mmol)를 0에서 가하고 혼합액을 0에서 3시간 교반하였다. 반응액을 celite로 여과한 후 acetonitrile(5 ml)로 세척한 후 여액을 감압농축하였다. 잔류물에 EtOAc(10 ml)와 증류수(10 ml)를 가하고 유기층을 추출한 후 5%  $\text{NaHCO}_3$ (10 ml)와 포화식염수(5 ml)로 세척하고, 무수  $\text{MgSO}_4$ 로 건조, 여과하고 감압농축하였다. 잔류물을 column chromatography(EtOAc/*n*-hexane=1:3, gradient elution, v:v)로 정제하여 연노랑색의 고점도의 오일상(443 mg, 60.1%)을 얻었다.

TLC(EtOAc/*n*-hexane=1:2, v:v),  $R_f=0.28, 0.29$

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ , *Z*-form,  $\delta$  1.31(3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 1.47(3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 2.51(3H, sd,  $J=0.9$  Hz, thienyl  $\text{CH}_3$ ), 3.77(3H, s,  $\text{OCH}_3$ ), 4.39(1H, s,  $\text{H}_3$ ), 5.10(1H, d,  $J=11.7$  Hz, benzylic H), 5.31(1H, d,  $J=11.7$  Hz, benzylic H), 5.35(1H, d,  $J=1.0$  Hz,  $\text{H}_5$ ), 6.81(1H, dd,  $J=3.7$  Hz,  $J=0.9$  Hz, thienyl  $\text{H}_{10}$ ), 6.88(2H,

d,  $J=8.7$  Hz, benzene), 7.20(1H, d,  $J=3.7$  Hz,  $\text{H}_9$ ), 7.29(d, 2H,  $J=8.7$  Hz, benzene), 7.41(1H, d,  $J=1.0$  Hz,  $\text{H}_8$ ).

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ , *E*-form,  $\delta$  1.31(3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 1.49(3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 2.49(3H, s, thienyl  $\text{CH}_3$ ), 3.81(3H, s,  $\text{OCH}_3$ ), 4.38(1H, s,  $\text{H}_3$ ), 5.10(1H, s,  $\text{H}_5$ ), 5.11(1H, d,  $J=11.7$  Hz, benzylic H), 5.29(1H, d,  $J=11.7$  Hz, benzylic H), 6.81(1H, dd,  $J=3.7$  Hz,  $J=1.0$  Hz, thienyl  $\text{H}_{10}$ ), 6.82(1H, s,  $\text{H}_8$ ), 6.88(2H, d,  $J=8.7$  Hz, benzene), 7.28(2H, d,  $J=8.7$  Hz, benzene) 7.51(1H, d,  $J=3.7$  Hz, thienyl  $\text{H}_9$ ).

**p-Methoxybenzyl 6-[1-(5-chloro-2-thienyl)methylene]penicillate 1,1-dioxide(8b)** – 중간체 **7b**(490 mg, 0.79 mmol)를 사용하여 화합물 **8a**와 동일한 방법으로 합성하고 column chromatography(EtOAc/*n*-hexane=1:3, v:v, gradient elution)로 정제하여 연노랑색 foam 형태의 화합물(220 mg, 58.2%)을 *Z* form과 *E* form의 혼합물로 얻었다.

TLC(EtOAc/*n*-hexane=1:2, v:v),  $R_f=0.24, 0.27$

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$   $\delta$  1.26(3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 1.50(3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 3.83(3H, s,  $\text{OCH}_3$ ), 4.46(1H, s,  $\text{H}_3$ ), 5.13(1H, d,  $J=11.7$  Hz, benzylic H), 5.28(1H, d,  $J=11.7$  Hz, benzylic H), 5.38(1H, sd,  $\text{H}_5$ ), 6.93~6.90(3H, m, thienyl H, benzene), 7.43~7.37(3H, m, thienyl H, benzene), 7.52(1H, s,  $\text{H}_8$ ).

**p-Methoxybenzyl 6-[1-(3-chloro-2-thienyl)methylene]penicillate 1,1-dioxide(8c)** – 중간체 **7c**(530 mg, 0.85 mmol)를 사용하여 화합물 **8a**와 동일한 방법으로 합성하고 column chromatography(EtOAc/*n*-hexane=1:3, v:v, gradient elution)로 정제하여 연노랑색 foam 형태의 화합물(244 mg, 60.1%)을 얻었다.

TLC(EtOAc/*n*-hexane=1:2, v:v),  $R_f=0.29$ (*Z*-form), 0.36(*E*-form)

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ , *Z*-form,  $\delta$  1.31(3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 1.48(3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 3.80(3H, s,  $\text{OCH}_3$ ), 4.49(1H, s,  $\text{H}_3$ ), 5.11(1H, d,  $J=11.7$  Hz, benzylic H), 5.28(1H, d,  $J=11.7$  Hz, benzylic H), 5.40(1H, d,  $J=0.8$  Hz,  $\text{H}_5$ ), 6.88(2H, d,  $J=8.6$  Hz, benzene), 7.01(1H, d,  $J=5.3$  Hz, thienyl  $\text{H}_9$ ), 7.29(2H, d,  $J=8.6$  Hz, benzene), 7.48(1H, d,  $J=5.3$  Hz,  $\text{H}_{10}$ ), 7.66(1H, s,  $\text{H}_8$ ).

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ , *E*-form,  $\delta$  1.31(3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 1.49(3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 3.81(3H, s,  $\text{OCH}_3$ ), 4.45(1H, s,  $\text{H}_3$ ), 5.11(1H, d,  $J=11.7$  Hz, benzylic H), 5.12(1H, s,  $\text{H}_5$ ), 5.28(1H, d,  $J=11.7$  Hz, benzylic H), 6.80(2H, d,  $J=8.6$  Hz, benzene), 7.01(1H, d,  $J=5.4$  Hz, thienyl  $\text{H}_9$ ), 7.14(1H, s,  $\text{H}_8$ ), 7.31(2H, d,  $J=8.6$  Hz, benzene) 7.48(1H, d,  $J=5.4$  Hz, thienyl  $\text{H}_{10}$ ).

**p-Methoxybenzyl 6-[1-(4-methoxy-2-thienyl)methylene]penicillate 1,1-dioxide(8d)** – 중간체 **7d**(350 mg, 0.57 mmol)를 화합물 **8a**와 동일한 방법으로 합성하고 column chromatography

(EtOAc/*n*-hexane=1:3, v:v, gradient elution)로 정제하여 연노랑색 foam 형태의 화합물(192 mg, 70.5%)을 *E* 형태와 *Z* 형태의 약 1:3.2의 혼합물로 얻었다.

TLC(EtOAc/*n*-hexane=1:2, v:v),  $R_f=0.16, 0.20$

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ , *Z*-form,  $\delta$  1.32(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.55(3H, s, CH<sub>3</sub>), 3.83(6H, s, OCH<sub>3</sub>, thienyl OCH<sub>3</sub>) 4.45(1H, s, H<sub>3</sub>), 5.12(1H, d, benzylic H), 5.27(1H, d, benzylic H), 5.36(1H, s, H<sub>5</sub>), 6.51(1H, s, thienyl H), 6.91(2H, d, benzene), 7.03(1H, thienyl H), 7.37~7.32(3H, benzene 2H, H<sub>8</sub>).

***p*-Methoxybenzyl 6-[1-(3-thienyl)methylene]penicillate 1,1-dioxide(8e)** – 중간체 **7e**(866 mg, 1.48 mmol)를 화합물 **8a**와 동일한 방법으로 합성하고 column chromatography(EtOAc/*n*-hexane=1:3, v:v, gradient elution)로 정제하여 연노랑색 foam 형태의 화합물(424 mg, 64.2%)을 *E* 형태와 *Z* 형태의 약 1:2의 혼합물로 얻었다.

TLC(EtOAc/*n*-hexane=1:2, v:v),  $R_f=0.30, 0.31$

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ , (*Z* form과 *E* form의 2:1 혼합물),  $\delta$  \*1.30(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.33(3H, s, CH<sub>3</sub>), \*1.53(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.66(3H, s, CH<sub>3</sub>), 3.82(3H, s, OCH<sub>3</sub>), \*4.45(1H, s, H<sub>3</sub>), 4.46(1H, s, H<sub>3</sub>), 5.11(1H, d,  $J=11.7$  Hz, benzylic H), \*5.11(1H, d,  $J=0.6$  Hz, H<sub>5</sub>), 5.28(1H, d,  $J=11.7$  Hz, benzylic H), 5.34(1H, d,  $J=1.3$  Hz, H<sub>5</sub>), \*6.84(1H, H<sub>8</sub>), 6.91(2H, d,  $J=8.7$  Hz, benzene), 7.28(1H, dd,  $J=1.21$  Hz, thienyl H), \*7.30(1H, dd, thienyl H), 7.33(2H, d,  $J=8.7$  Hz, benzene), 7.40(1H, s, H<sub>8</sub>), 7.42(1H, dd,  $J=2.9$  Hz,  $J=5.2$  Hz, thienyl H), 7.68(1H, dd,  $J=1.2$  Hz,  $J=2.9$  Hz, thienyl H), \*7.81(1H, dd, thienyl H), \*7.97(1H, dd,  $J=2.9$  Hz,  $J=1.1$  Hz, thienyl H).

***p*-Methoxybenzyl 6-[1-(2-thienyl)methylene]penicillate 1,1-dioxide(8f)** – 중간체 **7f**(866 mg, 1.48 mmol)를 화합물 **8a**와 동일한 방법으로 합성하고 column chromatography(EtOAc/*n*-hexane=1:3, v:v, gradient elution)로 정제하여 무색의 foam 형태의 화합물(408 mg, 62.7%)을 *E* 형태와 *Z* 형태의 약 1:2의 혼합물로 얻었다.

TLC(EtOAc/*n*-hexane=1:2, v:v),  $R_f=0.28, 0.30$

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ , (*Z* form),  $\delta$  1.33(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.57(3H, s, CH<sub>3</sub>), 3.82(3H, s, OCH<sub>3</sub>), 4.45(1H, s, H<sub>3</sub>), 5.11(1H, d,  $J=11.70$  Hz, benzylic H), 5.28(1H, d,  $J=11.7$  Hz, benzylic H), 5.38(1H, d,  $J=1.3$  Hz, H<sub>5</sub>), 6.91(2H, d,  $J=8.7$  Hz, benzene), 7.28(1H, dd,  $J=1.2$  Hz, thienyl H), 7.33(2H, d,  $J=8.7$  Hz, benzene), 7.40(1H, s, H<sub>8</sub>), 7.42(1H, dd,  $J=2.9$  Hz,  $J=5.2$  Hz, thienyl H), 7.68(1H, dd,  $J=1.2$  Hz,  $J=2.9$  Hz, thienyl H).

***p*-Methoxybenzyl 6-[1-(3-methyl-2-thienyl)methylene]penicillate 1,1-dioxide(8g)** – 중간체 **7g**(962 mg, 1.6 mmol)를 화합물 **8a**와 동일한 방법으로 합성하고 column chromatography

(EtOAc/*n*-hexane=1:3, v:v, gradient elution)로 정제하여 무색의 foam 형태의 화합물(632 mg, 76.8%)을 *E* 형태와 *Z* 형태의 약 1:2의 혼합물로 얻었다.

TLC(EtOAc/*n*-hexane=1:2, v:v),  $R_f=0.18, 0.25$

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ , *Z*-form,  $\delta$  1.31(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.55(3H, s, CH<sub>3</sub>), 2.36(3H, sd,  $J=0.9$  Hz, thienyl CH<sub>3</sub>), 3.80(3H, s, OCH<sub>3</sub>), 4.43(1H, s, H<sub>3</sub>), 5.11(1H, d,  $J=11.7$  Hz, benzylic H), 5.32(1H, d,  $J=11.7$  Hz, benzylic H), 5.39(1H, d,  $J=1.0$  Hz, H<sub>5</sub>), 6.90(1H, dd,  $J=3.7$  Hz,  $J=0.9$  Hz, thienyl H<sub>10</sub>), 6.91(2H, d,  $J=8.7$  Hz, benzene), 7.28(1H, d,  $J=3.7$  Hz, H<sub>8</sub>), 7.45(d,  $J=8.7$  Hz, benzene), 7.62(1H, d,  $J=1.0$  Hz, H<sub>8</sub>).

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ , *E*-form,  $\delta$  1.31(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.55(3H, s, CH<sub>3</sub>), 2.37(3H, s, thienyl CH<sub>3</sub>), 3.80(3H, s, OCH<sub>3</sub>), 4.42(1H, s, H<sub>3</sub>), 5.11(1H, s, H<sub>5</sub>), 5.13(1H, d,  $J=11.7$  Hz, benzylic H), 5.32(1H, d,  $J=11.7$  Hz, benzylic H), 6.91(1H, dd,  $J=3.7$  Hz,  $J=1.0$  Hz, thienyl H<sub>10</sub>), 6.92(1H, s, H<sub>8</sub>), 7.30(1H, d,  $J=3.7$  Hz, H<sub>9</sub>), 7.33(2H, d,  $J=8.7$  Hz, benzene) 7.45(1H, d,  $J=3.7$  Hz, thienyl H<sub>9</sub>), 7.63(1H, d,  $J=1.0$  Hz, H<sub>8</sub>).

**6-[1-(5-Methyl-2-thienyl)methylene]penicillic acid 1,1-dioxide(4a)** – 중간체 **8a**(157 mg, 0.34 mmol)를 *m*-cresol(1.5 ml)에 녹인 후 50°C에서 4시간 교반하였다. 반응액에 EtOAc(2.0 ml)와 증류수(2.0 ml)를 가하여 잠시 교반하고 5% NaHCO<sub>3</sub> 용액으로 반응액의 pH를 10으로 한 후 EtOAc(10 ml×2)로 *m*-cresol을 제거하였다. 수층을 1 M HCl로 산성화하여 pH를 2~3으로 하고 EtOAc(10 ml×3)로 화합물을 추출한 후 1 M HCl(15 ml)과 포화식염수(10 ml)로 세척하고 무수 MgSO<sub>4</sub>로 건조하고 여과, 감압농축하여 연노랑색 foam 형태의 목적 화합물(44 mg, 38.1%)을 얻었다.

TLC(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/HOAc=90:10:1, v:v),  $R_f=0.23, 0.24$

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ , (*Z* form과 *E* form의 약 2.5:1 혼합물),  $\delta$  1.20(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.48(3H, s, CH<sub>3</sub>), 2.51(3H, s, thienyl CH<sub>3</sub>), 4.38(1H, s, H<sub>3</sub>), \*5.19(1H, s, H<sub>5</sub>), 5.41(1H, d,  $J=1.2$  Hz, H<sub>5</sub>), 6.81(1H, dd,  $J=3.6$  Hz,  $J=0.9$  Hz, thienyl H<sub>10</sub>), \*6.88(1H, s, H<sub>8</sub>), 7.20(1H, d,  $J=3.6$  Hz, thienyl H<sub>9</sub>), 7.48(1H, sd, H<sub>8</sub>), \*7.54(1H, d,  $J=3.7$  Hz, thienyl H<sub>9</sub>).

**6-[1-(5-Chloro-2-thienyl)methylene]penicillic acid 1,1-dioxide(4b)** – 중간체 **8b**(168 mg, 0.35 mmol)를 사용하여 화합물 **4a**와 동일한 방법으로 합성하고 연노랑색 고체의 목적 화합물(71 mg, 56.1%)을 얻었다.

TLC(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/HOAc=90:10:1, v:v),  $R_f=0.22, 0.23$

$^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-}d_6)$ , (*Z* form과 *E* form의 2:1 혼합물),  $\delta$  1.38(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.50(3H, s, CH<sub>3</sub>), 4.33(1H, s, H<sub>3</sub>), \*5.14(1H, s, H<sub>5</sub>), 6.18(1H, s, H<sub>5</sub>), 7.61~6.92(2H, m, thienyl H), 7.82(1H, s, H<sub>8</sub>).

**6-[1-(3-Chloro-2-thienyl)methylene]penicillic acid 1,1-dioxide(4c)** - 중간체 **8c**(101.5 mg, 0.21 mmol)를 사용하여 화합물 **4a**와 동일한 방법으로 합성하고 연노랑색 oil상의 목적 화합물(48 mg, 63.2%)을 *E* 형태와 *Z* 형태의 1:2 혼합물로 얻었다.

TLC(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/HOAc=90:10:1, v:v), R<sub>f</sub>=0.24, 0.25  
<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>), *Z*-form, δ 1.58(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.67(3H, s, CH<sub>3</sub>), 4.51(1H, s, H<sub>3</sub>), 5.43(1H, sd, H<sub>5</sub>), 7.06(1H, d, J=5.3 Hz, thienyl H<sub>9</sub>), 7.55(1H, dd, J=5.3 Hz, thienyl H<sub>10</sub>), 7.70(1H, s, H<sub>8</sub>).

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>), *E*-form, δ 1.55(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.66(3H, s, CH<sub>3</sub>), 4.49(1H, s, H<sub>3</sub>), 5.21(1H, s, H<sub>5</sub>), 6.00(1H, br, CO<sub>2</sub>H), 7.02(1H, d, J=5.3 Hz, thienyl H<sub>9</sub>), 7.18(1H, s, H<sub>8</sub>), 7.56(1H, dd, J=5.3 Hz, thienyl H<sub>10</sub>).

**6-[1-(4-Methoxy-2-thienyl)methylene]penicillic acid 1,1-dioxide(4d)** - 중간체 **8d**(80 mg, 0.17 mmol)를 화합물 **4a**와 동일한 방법으로 합성하고 연노랑색 oil상의 목적 화합물(43.3 mg, 71.3%)을 *E* 형태와 *Z* 형태의 약 1:3.5의 혼합물로 얻었다.

TLC(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/HOAc=90:10:1, v:v), R<sub>f</sub>=0.13, 0.14  
<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>), (*Z* form과 *E* form의 1:3.5 혼합물), δ 1.57(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.67(3H, s, CH<sub>3</sub>), 3.82(3H, s, thienyl OCH<sub>3</sub>), 4.47(1H, s, H<sub>3</sub>), \*5.17(1H, s, H<sub>5</sub>), 5.42(1H, s, H<sub>5</sub>), 6.26(1H, br, CO<sub>2</sub>H), 6.54(1H, s, thienyl H), \*6.58(1H, s, thienyl H), \*6.77(1H, s, H<sub>8</sub>), 7.05(1H, s, thienyl H), 7.40(1H, s, H<sub>8</sub>), \*7.54(1H, s, thienyl H).

**6-[1-(3-Thienyl)methylene]penicillic acid 1,1-dioxide(4e)** - 중간체 **8e**(113 mg, 0.25 mmol)를 화합물 **4a**와 동일한 방법으로 합성하고 연노랑색 foam 형태의 목적 화합물(50 mg, 61.3%)을 *E* 형태와 *Z* 형태의 약 1:2의 혼합물로 얻었다.

TLC(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/HOAc=90:10:1, v:v), R<sub>f</sub>=0.13, 0.14  
<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>), (*Z* form과 *E* form의 약 2:1 혼합물), δ 1.50(3H, s, CH<sub>3</sub>), \*1.54(3H, s, CH<sub>3</sub>), \*1.64(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.67(3H, s, CH<sub>3</sub>), 4.48(1H, s, H<sub>3</sub>), 4.80(1H, br, CO<sub>2</sub>H), \*5.17(1H, s, H<sub>5</sub>), 5.4(1H, dd, J=1.0 Hz, H<sub>5</sub>), \*6.87(1H, s, H<sub>8</sub>), 7.29(1H, dd, J=5.2 Hz, J=1.1 Hz, thienyl H), \*7.36(1H, dd, J=2.9 Hz, J=5.0 Hz, thienyl H), 7.43(1H, s, H<sub>8</sub>), 7.44(1H, dd, J=3.0 Hz, J=5.1 Hz, thienyl H), 7.7(1H, dd, thienyl H<sub>9</sub>), \*7.81(1H, dd, J=5.1 Hz, J=1.1 Hz, thienyl H), \*7.99(1H, dd, thienyl H).

**6-[1-(2-Thienyl)methylene]penicillic acid 1,1-dioxide(4f)** - 중간체 **8f**(113 mg, 0.25 mmol)를 화합물 **4a**와 동일한 방법으로 합성하고 연노랑색 foam 형태의 목적 화합물(60 mg, 67.9%)을 *E* 형태와 *Z* 형태의 약 1:2의 혼합물로 얻었다.

TLC(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/HOAc=90:10:1, v:v), R<sub>f</sub>=0.13, 0.14  
<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>), (*Z* form과 *E* form의 약 2:1 혼합물),

δ 1.50(3H, s, CH<sub>3</sub>), \*1.54(3H, s, CH<sub>3</sub>), \*1.64(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.67(3H, s, CH<sub>3</sub>), 4.48(1H, s, H<sub>3</sub>), 4.80(1H, br, CO<sub>2</sub>H), \*5.17(1H, s, H<sub>5</sub>), 5.41(1H, dd, J=1.0 Hz, H<sub>5</sub>), \*6.87(1H, s, H<sub>8</sub>), 7.21(1H, s, J=5.2 Hz, J=1.1 Hz, thienyl H), \*7.33(1H, s, J=2.9 Hz, J=5.0 Hz, thienyl H), 7.43(1H, s, H<sub>8</sub>), 7.45(1H, dd, J=3.0 Hz, J=5.1 Hz, thienyl H), 7.72(1H, dd, thienyl H<sub>9</sub>), \*7.79(1H, dd, J=5.1 Hz, J=1.1 Hz, thienyl H), \*7.97(1H, dd, thienyl H).

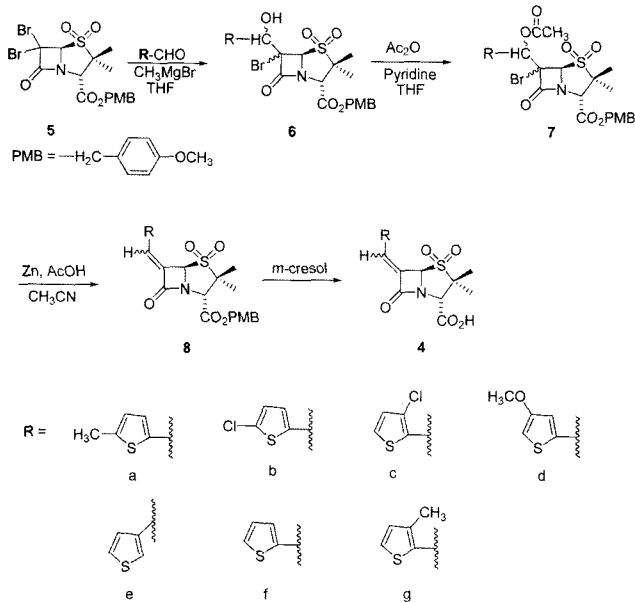
**6-[1-(3-Methyl-2-thienyl)methylene]penicillic acid 1,1-dioxide(4g)** - 중간체 **8g**(157 mg, 0.34 mmol)를 화합물 **4a**와 동일한 방법으로 합성하고 연노랑색 foam 형태의 목적 화합물(69 mg, 71.5%)을 *E* 형태와 *Z* 형태의 약 1:2.5의 혼합물로 얻었다.

TLC(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/HOAc=90:10:1, v:v), R<sub>f</sub>=0.18, 0.20  
<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>), (*Z* form과 *E* form의 약 2.5:1 혼합물), δ 1.20(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.52(3H, s, CH<sub>3</sub>), 2.52(3H, s, thienyl CH<sub>3</sub>), 4.41(1H, s, H<sub>3</sub>), \*5.22(1H, s, H<sub>5</sub>), 5.41(1H, d, J=1.2 Hz, H<sub>5</sub>), 6.83(1H, dd, J=3.6 Hz, J=0.9 Hz, thienyl H<sub>10</sub>), \*6.88(1H, s, H<sub>8</sub>), 7.22(1H, d, J=3.6 Hz, thienyl H<sub>9</sub>), 7.48(1H, sd, H<sub>8</sub>), \*7.54(1H, d, J=3.7 Hz, thienyl H<sub>9</sub>).

## 결과 및 고찰

### 합성

설계한 목적 화합물은 Scheme 1에서 나타낸 바와 같이 합성하였다. 즉, 반응 중간체인 *p*-methoxybenzyl 6,6-dibromopenicillate sulfone(**5**)에 1당량의 CH<sub>3</sub>MgBr를 처리한 후, 도입하고자 하는 aldehyde 화합물을 가하여 hydroxy 화합물 **6**을 34.0~92.8%의 수율로 합성하였다. 이때 생성된 hydroxy 화합물은 적어도 3가지 이상의 이성체의 혼합물임을 <sup>1</sup>H NMR을 통하여 알 수 있었으나 각각의 이성체를 분리하여 확인하기는 어려웠고, 혼합물로서 다음 반응에 사용하였다. Acetic anhydride로 acetylation하여 85.8%~정량적 수율로 화합물 **7**을 얻었고 더 이상의 정제과정없이 다음 반응을 진행하여, 초산 존재 하에서 아연분말을 가하여 이중결합이 도입된 화합물 **8**을 58.2~76.8%의 수율로 얻었다. 초산과 아연분말은 과량을 사용하였으며, 반응 과정에서 화합물에 따라 치환한 thiophene moiety가 제거되는 부반응이 나타났다. 이중결합이 도입된 화합물 **8**은 *E* 형태와 *Z* 형태의 이성체로 각각 생성되었으며, 각각의 구조는 이미 보고된 문헌에 의하여 <sup>1</sup>H NMR에서 5번 위치 수소의 chemical shift 값의 차이로 확인할 수 있었으며,<sup>7)</sup> *Z* 이성체는 *E* 이성체에 비하여 5번 위치의 수소가 0.2~0.3 ppm 정도로 down field에서 나타났다. 합성시 일반적으로 *Z* 이성체가 2배 이상 많이 생성되었고, 두 이성체는 TLC에서 R<sub>f</sub> 값이 거의 유사하게 나타났으며 silica gel을 통한 column chromatography에서 완전히 분리하기가 어려웠으므로



Scheme 1 - Synthesis of 6-(thienylmethylene)penam sulfone derivatives.

우선 혼합물의 형태로 활성 실험을 한 후, 우수한 생물학적 활성을 나타낸 화합물에 대하여 이성체의 분리를 시도하기로 하였다. 문헌에 의하면 *Z* 이성체의 화합물이 *E* 형태에 비하여 보다 우수한 활성을 나타내는 것으로 보고되어 있다.<sup>8)</sup> 보호기 (protecting group)인 *p*-methoxybenzyl group은 *m*-cresol 용액 중에서 50°C로 4~5시간 교반하여 제거함으로써 free acid 형태로 된 7종의 최종 목적 화합물 4a~g를 38.1~71.5%의 수율로 합성하였다.

#### 생물학적 활성

합성된 7종의 화합물 4a~g의  $\beta$ -lactamase에 대한 저해활성은 기존의  $\beta$ -lactamase 저해제인 sulbactam과 비교하여 Table I에 나타내었다. 합성된 화합물의 대부분은 대조물질인 sulbactam에 비하여 우수한 활성을 나타내었으며 주로 type III과 type IV의  $\beta$ -lactamase에 대하여 강한 저해활성을 나타내었다. 특히 화합물

4b는 sulbactam과 비교하였을 때 매우 우수한 억제작용을 나타내었다. 보호기를 제거하지 않았을 경우 화합물의 저해 활성의 여부를 확인하고자 8b 화합물을 실험한 결과, 보호기가 있을 경우에는 저해활성을 나타내지 않음을 알 수 있었다.

상대적으로 우수한 저해활성을 나타낸 화합물 4a~e는  $\beta$ -lactam 항생제인 cefotaxime sodium(CFT) 혹은 ceftriaxone sodium (CTO)과 병용하여  $\beta$ -lactamase를 생성하는 균주 33종에 대한 MIC(minimal inhibitory concentration)를 측정하여 synergistic 효과에 의한 항균력을 실험하였고 대조물질인 sulbactam과 비교하여 그 결과를 Table II에 나타내었다.

합성된 화합물들은 병용한 항생제의 내성균주에 대한 항균력을 유의성있게 증가시켜 우수한 활성을 나타내었다. 특히 *M. morgani* 2의 균주에서는 공통적으로 모든 화합물들이 sulbactam보다 우수한 활성을 나타내었으며, ceftriaxone과 병용하여 실험한 화합물 4b, 4c, 4d의 경우 각각 5종, 4종, 2종의 균주에서 sulbactam보다 매우 우수한 활성을 나타내었다.

## 결론

$\beta$ -Lactamase 저해제인 sulbactam을 기본골격으로 하는 6-exomethylenepenam 유도체로서, exomethylene에 thiophene 및 치환기가 있는 thiophene이 도입된 화합물을 설계하여 4a~g의 7종을 합성하였고 각각의  $\beta$ -lactamase 저해활성을 검토하였다. 화합물들의  $\beta$ -lactamase(type I~IV)에 대한 저해활성은 대조물질인 sulbactam과 비슷하거나 더욱 우수하였으며, 특히 type III와 IV에 대한 강한 억제능을 가지고 있었다.  $\beta$ -Lactamase 저해활성이 상대적으로 우수한 화합물 4a~e의 화합물과  $\beta$ -lactamase 항생제(cefotaxime sodium, ceftriaxone sodium)를 병용하여  $\beta$ -lactamase 생성균주에 대한 항균력을 실험하였을 때, 균주에 따라 sulbactam보다 우수한 활성을 나타낸 화합물이 있었으며 내성균주에 대한 항생제의 항균력을 유의성있게 증가시켰으며, 특히 4a, 4b, 4c, 4e 화합물은 우수한 항균활성을 나타내었다.

Table I -  $\beta$ -Lactamase inhibitory activities of the prepared compounds (IC<sub>50</sub>,  $\mu$ g/ml)

Compound	Enzyme	Type I	Type II	Type III	Type IV
Sulbactam		no Inhibition	600	1000	400
(4a) ( <i>E</i> : <i>Z</i> =1:2.5)		no Inhibition	no Inhibition	100	1~10
(4b) ( <i>E</i> : <i>Z</i> =1:2)		no Inhibition	300	30	7
(4c) ( <i>E</i> : <i>Z</i> =1:2)		no Inhibition	1000	300	70
(4d) ( <i>E</i> : <i>Z</i> =1:3.5)		no Inhibition	1000	no Inhibition	700
(4e) ( <i>E</i> : <i>Z</i> =1:2)		no Inhibition	1000	100	100
(4f) ( <i>E</i> : <i>Z</i> =1:2)		no Inhibition	no Inhibition	no Inhibition	1000
(4g) ( <i>E</i> : <i>Z</i> =1:2.5)		no Inhibition	no Inhibition	1000	300
(8b) ( <i>E</i> : <i>Z</i> =1:2)		no Inhibition	no Inhibition	no Inhibition	no Inhibition

Table II - Antimicrobial susceptibility of the prepared compounds (MIC)

#	β-Lactamase producing strain		Minimal inhibitory concentration (μg/ml)								
			CFT	CFT+ Sulbac	CFT+ (4a)	CFT+ (4e)	CTO	CTO+ Sulbac	CTO+ (4b)	CTO+ (4c)	CTO+ (4d)
1	<i>C. freundii</i>	NIH10018-68	0.049	0.049	0.049	0.049	0.049	0.049	0.049	0.049	0.049
2	<i>E. cloacae</i>	11	>100.00	12.50	100.00	100.00	>100	12.5	25.00	50.00	100.00
3	<i>E. cloacae</i>	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	<i>E. aerogenes</i>	37	12.50	3.125	6.25	6.25	25	6.25	6.25	12.50	12.50
5	<i>K. pneumoniae</i>	F11035	>100	1.563	25.00	12.50	>100	1.563	6.25	25.00	50.00
6	<i>S. marcescens</i>	1	25.00	6.25	6.25	12.50	100	12.50	12.50	6.25	12.50
7	<i>S. marcescens</i>	2	12.50	12.50	12.50	12.50	25	25	6.25	6.25	12.50
8	<i>P. vulgaris</i>	20	0.195	0.049	0.098	0.195	0.098	0.025	0.025	0.025	0.049
9	<i>M. morgani</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	<i>M. morgani</i>	2	6.25	1.563	0.781	0.781	1.563	0.781	0.391	0.391	0.391
11	<i>P. aeruginosa</i>	F0013	>100.00	100.00	>100.00	>100.00	>100	50	>100	>100	>100
12	<i>P. aeruginosa</i>	5164	>100.00	>100.00	>100.00	>100.00	>100	>100	>100	>100	>100
13	<i>P. aeruginosa</i>	6390	>100.00	>100.00	>100.00	>100.00	>100	>100	>100	>100	>100
14	<i>A. calcoaceticus</i>	S21	100.00	1.563	25.00	25.00	>100	0.781	3.125	12.50	25.00
15	<i>E. coli</i>	ML4901/Rms213	12.50	3.125	6.25	6.25	3.125	3.125	3.125	3.125	3.125
16	<i>E. coli</i>	ML1401/RNG14	0.098	0.098	0.098	0.098	0.049	0.049	0.098	0.098	0.098
17	<i>E. coli</i>	ML1401/RNG238	0.098	0.098	0.098	0.098	0.049	0.049	0.098	0.098	0.098
18	<i>E. coli</i>	ML1401/RNG823	0.098	0.098	0.098	0.098	0.049	0.049	0.098	0.098	0.098
19	<i>E. cloacae</i>	GN7471	12.50	1.563	1.563	1.563	12.5	6.25	1.563	1.563	1.563
20	<i>P. vulgaris</i>	GN76	0.025	0.025	0.025	0.025	0.007	0.007	-	-	-
21	<i>P. aeruginosa</i>	GN918	50.00	50.00	50.00	50.00	50	50	50.00	50.00	50.00
22	<i>S. aureus</i>	MS15009/1258	1.563	0.781	1.563	1.563	1.563	1.563	0.007	0.013	-
23	<i>E. coli</i>	1193E	0.049	0.049	0.049	0.049	0.049	0.049	0.049	0.049	0.098
24	<i>E. coli</i>	3455E	6.25	0.195	6.25	3.125	6.25	0.195	0.391	1.563	3.125
25	<i>E. coli</i>	3739E	6.25	0.391	3.125	3.125	3.125	0.391	0.391	1.563	1.563
26	<i>E. coli</i>	3457E	0.391	0.195	0.391	0.391	0.391	0.098	0.195	0.391	0.391
27	<i>E. coli</i>	2639E	1.563	0.195	3.125	0.195	3.125	0.391	0.391	1.563	3.125
28	<i>C. diversus</i>	2046E	6.25	0.781	3.125	3.125	3.125	1.563	1.563	1.563	3.125
29	<i>E. cloacae</i>	1194E	100.00	12.50	50.00	50.00	>100	25	50.00	50.00	100.00
30	<i>K. aerogenes</i>	1976E	0.391	0.195	0.195	0.195	0.195	0.195	0.195	0.195	0.195
31	<i>K. aerogenes</i>	1082E	0.781	0.781	0.781	0.781	6.25	6.25	3.125	3.125	6.25
32	<i>H. influenzae</i>	1788E	100.00	50.00	50.00	50.00	25	6.25	3.125	6.25	6.25
33	<i>E. cloacae</i>	P99	50.00	6.25	25.00	25.00	50	6.25	12.50	25.00	50.00

CFT : cefotaxime sodium, CTO : ceftriaxone sodium, sulbac : sulbactam

## 감사의 말씀

이 논문은 2007년도 정부(과학기술부)의 재원으로 한국과학재단의 지원을 받아 수행된 연구임(R11-2007-040-02004-0).

## 문헌

- Knowles, J. R. : Penicillin resistance : The chemistry of β-lactamase inhibitor. *Acc. Chem. Res.* **18**, 97 (1985).
- Sykes, R. B. : β-Lactam antibiotics. Academic press, New York, p. 199 (1981).
- Ogawara, H. : Antibiotic resistance in pathogenic and producing bacteria with special reference to β-lactam antibiotics. *Microbiol. Rev.* **45**, 591 (1981).
- Buynak, J. D., Wu, K., Bachmann, B., Khasnis, D., Hua, L., Nguyen, H. K. and Carver, C. L. : Synthesis and biological activity of 7-alkylidenecephems. *J. Med. Chem.* **38**, 1022 (1995).
- 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).
- Chen, Y. L., Chang, C. W., Hedberg, K. and Guarino, K. : Structure-activity relationships of 6-(heterocycl) methylene penam sulfones: A new class of β-lactamase inhibitors. *J. Antibiot.* **40**, 803 (1987).
- Foulds, C. D., Kosmirak, M. and Sammes, P. G. : Synthesis penicillanic and 1,1-dioxides as β-lactamase inhibitors: Studies on 6-benzylidene-and hydroxybenzylpenam sulfones. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* 963 (1985).
- Im, C., Maiti, S. N., Micetich, R. G. and Kunugita, C. : Synthesis and β-lactamase inhibitory activity of 6-[(1-heteroarylthioethyl-1,2,3-triazol-4-yl)-methylene]penam sulfones. *J. Antibiot.* **47**, 1030 (1994).