

새로운 의약품의 합성에 관한 연구: 6-Thiocyanopenicillanic Acid 유도체의 합성

李英行 · 李菜浩 · 崔元植†

원광대학교 화학과

†순천향대학교 유전공학과

(1992. 4. 28 접수)

A Study on the Synthesis of New Medicinal Agents: Synthesis of 6-Thiocyanopenicillanic Acid Derivatives

Young-Haeng Lee, Chai-Ho Lee, and Won-Sik Choi†

Department of Chemistry, Won Kwang University, Iri Chunbuk 570-479, Korea

†Department of Genetic Engineering, Soon Chun Hyang University, Asan Chungnam 337-880, Korea

(Received April 28, 1992)

요약. 6-Aminopenicillanic acid의 diazo화 반응과 sodium thiocyanate와 반응으로 새로운 β -lactam 화합물인 6-thiocyanopenicillanic acid(**1a**)를 합성하고 *p*-nitrobenzyl bromide, chloromethylpivalate 및 1-chlorodiethylcarbonate들과의 반응에 의해 각각에 해당하는 ester(**1b~d**)를 합성하였다.

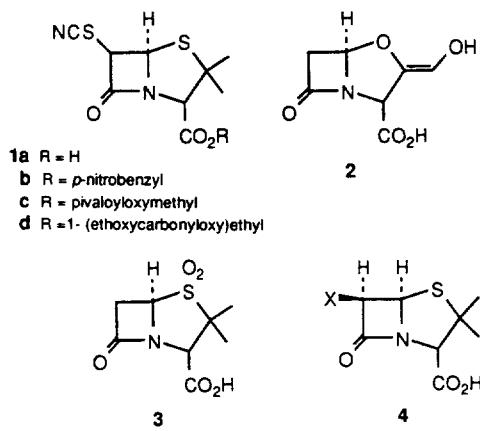
ABSTRACT. A new β -lactam compound, 6-thiocyanopenicillanic acid(**1a**) was prepared by the reaction of diazonium salt of 6-aminopenicillanic acid with sodium thiocyanate. Reaction of 6-thiocyanopenicillanic acid(**1a**) with *p*-nitrobenzyl bromide, chloromethylpivalate and 1-chlorodiethylcarbonate, respectively, afforded the corresponding esters(**1b~d**).

서 론

현재까지 알려진 대부분의 penicillin 유도체의 구조는 6-aminopenicillanic acid의 6-위치의 amino 기를 acyl화 반응시켜 amide 결합을 가지고 있는 화합물들로, 이러한 물질들은 보통 생리 활성(항균력)이 높은 것으로 알려져 왔다¹.

최근에 와서 6-aminopenicillanic acid의 amino기 대신 다른 원자나 원자단들을 도입시킨 화합물들도 생리 활성이 있거나 β -lactamase inhibitor로 작용한다는 사실이 밝혀졌다². 이러한 β -lactamase inhibitor들의 대표적인 화합물로는 clavulanic acid(**2**)^{3,4} 와 6-substituted penicillanic acid의 유도체인 sulbactam(penicillanic acid S,S-dioxide)(**3**)⁵과 6 β -hydroxypenicillanic acid(**4**)^{6~11} 등이 알려져 있다.

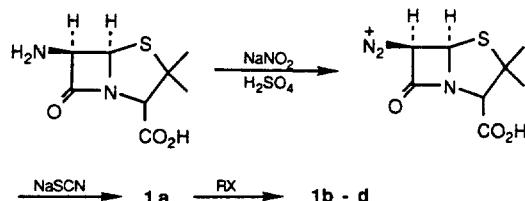
우리는 이러한 종류의 β -lactamase inhibitor에 관심을 가지고 6-aminopenicillanic acid의 amino기



대신에 황이 치환된 6-(carboxymethylthio)penicillanic acid 유도체들을 연구한 바 있다¹².

본 연구에서는 6-aminopenicillanic acid의 amino 기 대신 thiocyanato기가 도입된 새로운 β -lactam 화

합물인 6-thiocyanopenicillanic acid(**1a**) 및 그의 ester(**1b~d**)들의 합성에 관하여 연구하였으며, 이를 반응식으로 나타내면 다음과 같다.



실험

기기 및 시약

합성 물질의 확인을 위해 사용한 적외선 분광광도계는 Perkin-Elmer 1130 Grating Diffraction IR-Spectrophotometer를 핵자기 공명 스펙트럼은 Bruker CW 80 NMR Spectrometer를 원소분석은 MOO-1106 Model Carlo Erba(Italy)를 사용하였다.

합성에 사용한 시약으로 6-aminopenicillanic acid는 Denmark의 Novo사 제품을 chloromethylpivalate와 1-chlorodiethylcarbonate는 Aldrich제를 silica gel(kiesel gel 60, 70~320 mesh)은 Merck제를 사용하였으며, ¹H-NMR의 내부 표준물질로는 TMS를 사용하였다.

합성

6-Thiocyanopenicillanic acid(1a**)의 합성.** 6-Aminopenicillanic acid(1.08 g, 5 mmol)와 NaSCN(2.03 g, 25 mmol)에 증류수(25 mL)를 가하여 용해시키고 0°C로 조절하면서 진한 황산(25 mL)을 서서히 가한 후 여기에 methanol(25 mL)을 가했다. 같은 온도에서 NaNO₂(0.52 g, 7.5 mmol)를 가하여 1시간 동안 반응시켰다. 반응액을 chloroform(40 mL)으로 추출하여 무수 Na₂SO₄로 전조시키고 감압하에서 용매를 제거하여 노란 오일 생성물을 얻었다. 이를 silica gel 판크로마토그래피(용매 : acetonitrile : methanol = 2 : 1)를 이용하여 정제하면 6-thiocyanopenicillanic acid(**1a**) (0.69 g, 53.2%)를 얻었다.

¹NMR(CDCl₃) : δ 1.57(s, 3H, CH₃), 1.71(s, 3H, CH₃), 4.59(s, 1H, H-3), 5.37(d, 1H, J=2.2 Hz, H-6), 5.59(d, 1H, J=2.2 Hz, H-5); IR(neat): 3500~2800 (broad), 2170, 1770 cm⁻¹; C₉H₁₅N₂O₃S₂ : C=42.01 %, H=3.91%, N=10.63%([ο]론치 : C=41.86%, H=

3.88%, N=10.85%).

p-Nitrobenzyl 6-thiocyanopenicillanate(1b**)의 합성.** 6-Thiocyanopenicillanic acid(**1a**)(0.26 g, 1.0 mmol)를 염화메칠렌과 물(1:1 용액, 10 mL)에 용해시켰다. 여기에 NaHCO₃(0.32 g)와 tetrabutylammonium bromide(0.32 g, 0.1 mmol)를 가한 후 *p*-nitrobenzylbromide(0.25 g, 1.15 mmol)를 염화메틸렌(5 mL)에 용해시킨 용액을 서서히 가했다.

이 반응 혼합물을 30°C 이하로 유지하면서 2시간 동안 교반한 후 유기층을 분리하고 무수 Na₂SO₄로 전조시켜 감압하에서 용매를 제거하여 노란색 오일 생성물을 얻었다. 이를 silica gel 판크로마토그래피(용매 : acetonitrile : methanol = 2 : 1)를 이용하여 정제하면 *p*-nitrobenzyl 6-thiocyanopenicillanate(**1b**) (0.17 g, 42.1%)를 얻었다.

¹NMR(CDCl₃) : δ 1.35(s, 3H, CH₃), 1.61(s, 3H, CH₃), 4.30(s, 1H, H-3), 4.61(d, 1H, J=2.5 Hz, H-6), 5.30(d, 1H, J=2.5 Hz, H-5), 5.80(s, 2H, benzylic H), 7.83~8.20(q, 4H, aromatic H); IR(neat) : 2200, 1780, 1710, 1550 cm⁻¹; C₁₆H₁₅N₃O₅S₂ : C=48.81%, H=3.79%, N=10.61%([ο]론치 : C=48.85%, H=3.82%, N=10.69%).

Pivaloyloxymethyl 6-thiocyanopenicillanate(1c**)의 합성.** Acetone(8 mL)에 chloromethylpivalate(0.36 g, 1.50 mmol)와 sodium iodide(0.37 g, 2.47 mmol)을 가하여 실온에서 16시간 교반한 후 감압하에서 용매를 제거하고 잔여물에 ethyl acetate에 용해되는 물질만 분리하였다. 한편, 6-Thiocyanopenicillanic acid(**1a**)(0.26 g, 1.0 mmol)을 ethyl acetate와 물(1:1 용액, 20 mL)에 용해시키고, 여기에 NaHCO₃(0.25 g)와 tetrabutylammonium bromide(0.32 g, 0.1 mmol)를 가하고 위에서 반응시킨 용액을 가하여 30°C 이하에서 2시간 교반시킨 후 유기층을 분리하여 무수 Na₂SO₄로 전조시켜 얻어진 노란색의 오일 생성물을 silica gel 판크로마토그래피(용매 : acetonitrile : methanol = 2 : 1)를 이용하여 정제하여 pivaloyloxymethyl 6-thiocyanopenicillanate(**1c**) (0.17 g, 46.2%)를 얻었다.

¹NMR(CDCl₃) : δ 1.31(s, 9H, (CH₃)₃), 1.65(s, 3H, CH₃), 1.81(s, 3H, CH₃), 4.62(s, 1H, H-3), 5.31(s, 2H, CH₂), 5.73(d, 1H, J=2.3 Hz, H-6), 6.25(d, 1H, J=2.3

Hz, H-5); IR(neat) : 2170, 1780, 1750~1710 cm⁻¹; C₁₅H₂₀N₂O₅S₂ : C=48.39%, H=5.41%, N=7.51%(o) 른치 : C=48.39%, H=5.38%, N=7.53%).

1-(Ethoxycarbonyloxy)ethyl 6-thiocyanopenicillanate(1d)의 합성. 6-Thiocyanopenicillanic acid(1a) (0.26 g, 1.0 mmol)와 1-chlorodiethylcarbonate(0.23 g, 1.5 mmol)을 사용하여 pivaloyloxymethyl 6-thiocyanopenicillanate(1c)와 같은 방법으로 실험하여 1-(ethoxycarbonyloxy)-ethyl 6-thiocyanopenicillanate(1d) (0.19 g, 51.6%)를 얻었다.

¹NMR(CDCl₃) : δ 1.10~1.50(m, 6H, 2CH₃), 1.62(s, 3H, CH₃), 1.75(s, 3H, CH₃), 4.10(q, 2H, CH₂), 4.37(s, 1H, H-3), 4.63(d, 1H, J=2.0 Hz, H-6), 5.77(d, 1H, J=2.0 Hz, H-5), 6.45(q, 1H, CH); IR(neat) : 2180, 1780, 1760~1710 cm⁻¹; C₁₄H₁₈N₂S₂ : C=44.61%, H=4.85%, N=7.51%(이론치 : C=44.92%, H=4.81%, N=7.49%).

결과 및 고찰

6-Aminopenicillanic acid의 amino기를 다른 원자나 원자단을 도입시키기 위해서는 일반적으로 반응 중간체인 6-diazopenicillanic acid^{13~16}를 제조한 후 치환반응에 의해 halogen 화물이나 alkoxy기를 가진 6-substituted penicillanic acid 화합물들을 얻는다^{17~21}.

본 연구에서는 diazopenicillanic acid를 제조한 후 sodium thiocyanate와 치환반응에 의해 6-thiocyanopenicillanic acid(1a)를 합성한 후 3-위치의 carboxylic acid와 *p*-nitrobenzyl bromide, chloromethyl-pivalate 및 1-chlorodiethylcarbonate들과 ester화 반응시켜 6-thiocyanopenicillanate(1b~d)들을 합성하였다. 현재 널리 시판되고 있는 penicillin 유도체 중의 하나인 ampicillin의 3-위치를 변형시킨 carboxylic acid의 methyl pivalate 및 diethylcarbonate ester 화합물들은 비교적 약리 활성 효과가 큰 것으로 알려져 있어, 6-thiocyanopenicillanic acid(1a)의 ester(1b~d)들도 약리활성 효과가 있을 것으로 생각되어 이 물질들을 합성하였다. 이 실험에서는 일반적인 carboxylic acid의 ester화 방법에 의해서는 반응이 매우 느리게 진행되거나, 반응이 진행되지

않았으므로 본 연구에서는 상이동 촉매인 tetrabutylammonium bromide와 NaI를 사용하여 반응시킨 결과 짧은 시간에 비교적 높은 수율로 ester(1b~d)들을 얻었으며 판크로마토그래피(silica gel, 용매 : acetonitrile : methanol : 2 : 1)를 이용하여 반응 생성물들을 분리, 정제하였다. 한 예로, 6-thiocyanopenicillanic acid의 ¹H-NMR 스펙트럼을 보면 1.57 ppm(s, 3H)와, 1.71 ppm(s, 3H)는 2-위치의 *gem*-dimethyl기이며, 4.59 ppm(s, 1H)는 3-위치의 proton peak이고, 5.37 ppm(d, 1H) 및 5.59(d, 1H)는 전형적인 β -lactam 화합물들의 6-위치와 5-위치의 proton peak임을 알 수 있으며, IR 스펙트럼에서 3500~2800 cm⁻¹은 3-위치의 carboxylic acid, 2170 cm⁻¹은 6-위치의 cyano기, 1770 cm⁻¹은 β -lactam의 carbonyl peak임을 알 수 있다. 원소 분석 결과 역시 실험치와 이론치가 잘 일치하고 있으므로 합성이 되었음을 확인할 수 있었으며, ester 화합물(1b~d)들도 같은 방법으로 확인하였다.

한편, 이들 치환 생성물(1a~d)에 대한 H-5와 H-6의 입체 화학적 관계를 규명고려하고자 ¹H-NMR 스펙트럼의 coupling 상수를 관찰한 결과 J=2.0~2.5 Hz로 비교적 작은 값을 가지므로 이들 두 수소는 트란스 관계로 존재할 것으로 예상되지만, 자세한 입체 화학적 연구와 새로운 β -lactam계 항생물질이나 β -lactamase inhibitor로서의 가능성에 관한 생물학적 연구는 앞으로 계속해서 연구를 진행할 예정이다.

본 연구는 1991년도 교육부 기초과학 연구비(BSRI-91-334)의 지원에 의한 것으로 관계 당국에 감사드립니다.

인 용 문 헌

1. G. I. Gregory, "Recent Advance in the Chemistry of β -Lactam Antibiotics", Royal Society of Chemistry, London (1982).
2. R. B. Morin, "Chemistry and Biology of β -Lactam Antibiotics", Vol. 2, Academic Press, New York, London (1982).
3. T. T. Howarth, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 226 (1976).

4. A. G. Brown, *J. Antibiotic(Tokyo)*, **29**, 668 (1976).
5. R. A. Volkmann, R. D. Carroll, and R. B. Drort, *J. Org. Chem.*, **47**, 3344 (1982).
6. M. J. Loosemore and R. f. Pratt, *J. Org. Chem.*, **43**, 3611 (1978).
7. J. A. Aimetti, E. S. Hamanaka, D. A. Johnson, and M. S. Kellogg, *Tetrahedron Lett.*, **48**, 4631 (1979).
8. V. Knott-Hunziker and B. S. Orlek, *Biochem. J.*, **177**, 365 (1979).
9. B. S. Orlek and P. G. Sammes, *J. C. S. Chem. Commun.*, 962 (1979).
10. E. G. Mata, E. L. Setti, and O. A. Macearetti, *J. Org. Chem.*, **55**, 3674 (1990).
11. E. L. Setti and O. A. Macearetti, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 2029 (1988).
12. W. S. Choi, Y. H. Lee, and C. H. Lee, *J. Kor. Chem. Soc.*, **35**, 575 (1991).
13. E. G. Mata and O. A. Macearetti, *Tetrahedron Lett.*, **30**, 3905 (1989).
14. J. C. Sheehan, E. Chack, Y. S. Lo, D. R. Ponzi, and E. Sato, *J. Org. Chem.*, **43**, 4856 (1978).
15. M. M. Campbell, R. G. Harcus, and S. J. Ray, *Tetrahedron Lett.*, 1441 (1979).
16. S. A. Matlin and L. Chan, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 10(1981).
17. J. C. Sheehan, J. C. Thomas, and Y. S. Lo, *J. Org. Chem.*, **42**, 2224 (1977).
18. J. G. Peter, D. I. John, and J. T. Eric, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 2557 (1982).
19. B. S. Orlek and P. G. Sammes, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 232 (1980).
20. I. Mcmillan and R. J. Stoodley, *J. Chem. Soc. (c)*, 2533 (1968).
21. L. C. Yuhpyang, *J. Antibiotics(Tokyo)*, **44**, 870 (1991).