

차세대 내성균 감염질환 치료 후보물질 개발

Development of Remedy for the Infective Disease by Resistant Bacteria

광범위 카바페넴 항생제 개발

Development Of Carbapenem Antibiotics with Broad Spectrum

연구기관

한국과학기술연구원

과 학 기 술 부

제 출 문

과학기술부 장관 귀하

본 보고서를 “차세대 내성균 감염질환 치료 후보물질 개발”과제 (협동과제 “광범위 카바페넴 항생제 개발”)의 보고서로 제출합니다.

2003. 06. .

주관연구기관명:	한국과학기술연구원
주관연구책임자:	김동진 (책임연구원)
협동연구기관명:	한국과학기술연구원
협동연구책임자:	김동진 (책임연구원) 유경호 (선임연구원) 조정혁 (책임연구원)
연구원:	신계정, 김동찬, 강용구, 박웅서, 오창현 이기수, 이경석, 신창용, 오희숙, 이여란 윤재희, 이지훈, 조한원, 백건하, 이주신 이수철, 동현구, 백건하, 이종선 (이상 한국과학기술연구원) 구기동, 조성욱, 윤숙경, 김민정, 김종현 (이상 LGCI) 정순기, 이수철, 김소연 (이상 하원제약)
위탁연구기관명:	연세대학교 의과대학
위탁연구책임자:	이경원 (교수)
연구원:	용동은, 염종화, 김명숙, 박홍석, 이차순 정윤섭, 서영희

여 백

보고서 초록

과제관리번호	M-0112-00-0015	해당단계 연구기간	2001.8.15-2003.5.14	단계 구분	(2단계)/(2단계)
연구사업명	중 사업명	중점국가연구개발사업			
	세부사업명	생리활성화학물질개발사업			
연구과제명	중 과제명	차세대 내성균 감염질환 후보물질 개발			
	세부(단위)과제명	광범위 카바페넴 항생제 개발			
연구책임자	김 동 진	해당단계 참여연구원수	총 : 65명 내부 : 32명 외부 : 33명	해당단계 연구비	정부: 407,200천원 기업: 330,000천원 계: 737,200천원
연구기관명 및 소속부서명	한국과학기술연구원 생체과학연구부		참여기업명	(주)LG생명과학/(주)하원제약	
국제공동연구	상대국명 :		상대국연구기관명 :		
위탁연구	연구기관명 : 연세대학교 의과대학		연구책임자 : 이 경 원		
요약(연구결과를 중심으로 개조식 500자 이내)					보고서 면수
					194
<p>2단계 2년간의 연구수행으로 1단계에서 도출된 3종의 선도 화합물 (P-91014, P-91409, P-91022)에 대한 광범위용 후속 보완물질 합성과 병원 분리 내성균에 대한 효능검색, 약물동력학적 연구 및 100여개의 카바페넴계 신규물질을 합성하여 1차 활성검색을 실시.</p> <p>1. 광범위용 후속 보완물질 합성</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ P91014와 유사한 구조변환으로 유기산, 아미딘, 옥심 등의 관능기를 갖는 30여종의 신규 카바페넴 합성 ■ 이중 우수한 효능을 나타내는 6종의 선도물질을 도출하였으며 미세 구조변환으로 효능증대 연구 수행 중 <p>2. 광범위용 신규 카바페넴 합성</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ 피롤리딘의 측쇄의 시아노기를 옥심으로 변환하거나 메실기를 오원환의 이환고리로 치환하여 15종의 신규 카바페넴 합성 ■ 피롤리딘측쇄에 옥심기가 도입된 우레아형의 카바페넴유도체를 십여종 합성하였고 그 외에도 유사한 우레아형의 카바페넴 유도체를 십여종 합성하여 MIC 시험 실시 <p>3. P91014, P91409 및 P91022의 효능연구</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ 호기성 그람양성균주 중 <i>E. faecium</i> 및 그람음성균주 중 <i>A. baumannii</i>와 <i>P. aeruginosa</i>를 제외한 모든 균주에서 시험한 카바페넴이 모두 내성을 0%의 매우 우수한 효능을 나타내었으며, 혐기성 그람양성 및 그람음성 균주에서는 시험한 카바페넴이 모두 내성을 0%의 매우 우수한 효능을 나타내었음 ■ 상기의 결과를 종합하여 볼 때, 시판 카바페넴에 비하여 P91022가 중요 균주를 포함한 그람양성 및 그람음성균 모두에 대하여 가장 균형있는 효능을 나타냄 <p>4. P91409 및 P91022의 약물동력학 연구</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ P91409의 경우 rat에서는 MPM에 비해 반감기는 6배, 생체이용율은 5배 우수한 값을 나타내며, dog에서는 오차범위 내에서 MPM에 비하여 다소 열등한 값을 나타냄 ■ P91022의 rat에서의 약물동태연구를 수행하였음 <p>5. P91022 및 P21027의 구조변환</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ P91022의 올레핀기를 히드록시에틸기로 구조변환한 P22011을 합성하였으며 이는 탁월한 활성과 DHP-1에 대한 안정성을 나타내었음 ■ P21027의 이소옥사졸을 이소옥사졸린으로 구조변환하여 ESBL G(-)와 MDR G(-) 등 그람음성 내성균에 탁월한 효능을 나타내는 선도물질 P22007, P22010을 도출하였음 <p>이와 같은 연구결과로 3건의 국내특허를 등록, 2건의 국내특허를 출원하였으며, 9편의 논문을 SCI 외국 전문학술지에 게재하였고, 1편을 응모 중에 있음</p>					
색인어 (각 5개 이상)	한 글	항생제, 카바페넴, 광범위, 최소억제농도, 후속보완물질, 약물동력학			
	영 어	antibiotics, carbapenem, broad spectrum, MIC, back-up compounds, pharmacokinetics			

여 백

요 약 문

I. 제 목

광범위 카바페넴 항생제 개발

II. 연구개발의 목적 및 중요성

베타락탐계 항생제는 그 시장이 매우 크다는 것, 또 독성이 적고, 항균력이 우수하며, 합성법 및 구조-활성관계가 비교적 잘 알려져 있어 신약개발이 용이하다는 것, 그리고 지속적인 시장 성장률이 예상되고 있는 것과 같은 특징으로 인하여 그 비중이 점차 커지고 있다. 베타락탐계 항생제 연구의 변화 추이를 살펴보면 1950년 이후 Penicillin이 주도하다가 1980년까지 cephalosporin이 그 뒤를 이었다. 그러나 선진각국의 경쟁적 연구개발결과 주사용 세파계 항생제의 시장은 점점 포화단계에 이르고 있으며 이에 따라 강력한 항균작용과 약동력학적으로 우수한 특징을 지닌 항생제의 개발이 요구됨에 따라 카바페넴등과 같은 차세대 항생제 개발로 세계적인 연구의 방향전환이 이루어지고 있다. 이미페넴과 메로페넴으로 대표되는 카바페넴은 β -lactam계 항생제 중에서도 가장 넓으면서도 우수한 항균력을 나타낸다. 이와 같은 장점에도 불구하고 1세대 카바페넴계 항생제라 할 수 있는 이미페넴은 몇가지 심각한 문제점을 가지고 있다. 즉, 신장에서 분비되는 효소인 DHP-1에 대하여 불안정하여 cilastatin이라는 효소억제제와 병용투여하여야 하며, 뇌경련 유발효과가 높아 제한적으로 사용되며, 혈중반감기가 짧은 것이다. 2세대인 메로페넴은 카바페넴 모핵에 1 β -메틸기를 도입하여 이미페넴의 이와같은 문제점을 대부분 해결하였으나 이미페넴에 비하여 그람 양성균에 대하여 활성이 떨어지며, 여전히 혈중반감기가 짧은 단점을 갖고 있다. 또한 최근의 항생제의 과다 사용으로 인한 강력한 내성균의 발현으로 새로운 항생제의 개발에 대한 그 필요성이 계속적으로 대두되고 있다.

이와 같은 관점에서 본 연구에서는 기존의 이미페넴이나 메로페넴 보다 우수한 항균력, 광범위한 항균 범위 및 적은 부작용을 나타내어 세계시장에서 성공적일 것으로 기대되는 신규 1 β -메틸 카바페넴 항생제를 개발하고자 하였다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

본 연구진의 1단계 연구결과 도출된 광범위 카바페넴 선도물질들은 그람음성

간균에 대해서는 imipenem 보다, 그람양성 구균에 대해서는 meropenem보다 우수하였고, dehydropeptidase-I에 대해서도 매우 안정하여 현재 사용 중인 carbapenem 제의 단점이 보완된 약제라고 할 수 있다. 2단계에서는 1단계에서 도출된 광범위용 선도물질인 P91014, P91022에 대하여 병원 분리 호기성과 혐기성 내성균에 대한 *in vitro* 효능연구 및 중, 대동물 (dog, monkey)에서의 혈중반감기, 생체이용율, 최대혈중농도, clearance 등의 약물동력학적 연구를 수행하였다.

또한, 선도물질군의 depth를 증가시키기 위한 우수특성의 후속보완 물질을 합성 및 구조적 최적화연구를 수행하였으며, 합성한 신규 화합물들에 대해서는 *in vitro* 약효검색을 실시하였다.

IV. 연구개발 결과

2단계 2년간의 연구수행으로 1단계에서 도출된 3종의 선도 화합물 (P-91014, P-91409, P-91022)에 대한 광범위용 후속 보완물질 합성과 병원 분리 내성균에 대한 효능검색, 약물동력학적 연구 및 100여개의 카바페넴계 신규물질을 합성하여 1차 활성검색을 실시하였다. 이들 화합물들에 대한 화학적 및 생리활성적 특징은 다음과 같다.

1. 광범위용 후속 보완물질 합성

- P91014와 유사한 구조변환으로 유기산, 아미딘, 옥심 등의 관능기를 갖는 30여종의 신규 카바페넴 합성.
- 이중 우수한 효능을 나타내는 6종의 선도물질을 도출하였으며 미세 구조변환으로 효능증대 연구 수행 중.

2. 광범위용 신규 카바페넴 합성

- 피롤리딘의 측쇄의 시아노기를 옥심으로 변환하거나 메실기를 오원환의 이환고리로 치환하여 15종의 신규 카바페넴 합성.
- 피롤리딘측쇄에 옥심기가 도입된 우레아형의 카바페넴유도체를 십여종 합성하였고 그 외에도 유사한 우레아형의 카바페넴 유도체를 십여종 합성하여 MIC 시험 실시.

3. P91014, P91409 및 P91022의 효능연구

- 호기성 그람양성 균주 중 *E. faecium*을 제외한 모든 균주에서 시험한 카바페넴

이 모두 내성을 0%의 매우 우수한 효능을 나타내었음.

- 호기성 그람양성 균주에 대한 효능의 서열은 IPM¹ > P91014 = P91409 > P91022 > MPM² > EPM³ 이었음.
- 호기성 그람양성 균주 중 호흡기감염의 중요 균주인 *S. pneumoniae*에 대해서는 P91022가 비교 약물에 비해 가장 우수한 효능을 나타냄.
- 호기성 그람음성 균주 중 *A. baumannii*와 *P. aeruginosa*를 제외한 모든 균주에서 시험한 카바페넴이 대부분 내성을 0%의 매우 우수한 효능을 나타내었음.
- 호기성 그람음성 균주에 대한 효능의 서열은 MPM > P91022 > P91014 > EPM > 91409 > IPM 이었음.
- 호기성 그람음성 균주 중 원내감염의 가장 중요 균주인 *P. aeruginosa*에 대한 내성율은 MPM 11.7%로 가장 우수하며 IPM 18.3%, P91022 20%, P91014 50%, P91409 50%, EPM 68.3%의 순이었음.
- 혐기성 그람양성 및 그람음성 균주에서는 시험한 카바페넴이 모두 내성을 0%의 매우 우수한 효능을 나타내었음.
- 상기의 결과를 종합하여 볼 때, 시판 카바페넴에 비하여 P91022가 중요 균주를 포함한 그람양성 및 그람음성균 모두에 대하여 가장 균형있는 효능을 나타냄.

* IPM¹: Imipenem, MPM²: Meropenem, EPM³: Ertapenem

4. P91409 및 P91022의 약물동력학 연구

- P91409의 경우 rat에서는 MPM에 비해 반감기는 6배, 생체이용율은 5배 우수한 값을 나타내며, dog에서는 오차범위 내에서 MPM에 비하여 다소 열등한 값을 나타냄.
- P91022의 rat에서의 약물동태연구를 수행하였음.

5. P91022 및 P21027의 구조변환

- P91022의 올레핀기를 히드록시에틸기로 구조변환한 P22011을 합성하였으며 이는 탁월한 활성과 DHP-1에 대한 안정성을 나타내었음.
- P21027의 이소옥사졸을 이소옥사졸린으로 구조변환하여 ESBL G(-)와 MDR G(-) 등 그람음성 내성균에 탁월한 효능을 나타내는 선도물질 P22007, P22010 등을 도출하였음.

이와 같은 연구결과로 3건의 국내특허를 등록하였으며 2건의 국내특허를 출원하였다. 또한 9편의 논문을 외국 전문학술지에 게재하였고, 1편을 응모 중에 있다.

6. 논문게재

- 1) Synthesis and Biological Properties of New 1 β -Methylcarbapenems Containing Heteroaromatic Thioether Moiety. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, 11(17).
- 2) Synthesis and Antibacterial activity of 1 β -Methylcarbapenems Having a 2,2-Disubstituted-1,3-diazabicyclo[3.3.0]-octan-4-one Moiety and Their Related compounds. Part III. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **2002**, 335(4).
- 3) Synthesis and Antibacterial Activity of 1 β -Methyl-2-(5-substituted thiazolidinopyrrolidin-3-ylthio)carbapenems and Their Related Compounds. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **2002**, 335(5).
- 4) Synthesis and Antibacterial Activity of 1 β -Methyl-2-(5-substituted thiazolopyrrolidin-3-ylthio)carbapenem Derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, 37(9).
- 5) Synthesis and Biological Evaluation of Novel 1 β -Methylcarbapenems with Isothiazoloethenyl Side Chains. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13(3).
- 6) Synthesis and Antibacterial Activities of 4-Pyrrolidinylthio Carbapenems: Containing Heteroaromatics as a Side Chain. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **2003**, 336.
- 7) Synthesis and Antibacterial Activity of 1 β -Methyl-2-[5-(N-Substituted (2-hydroxyimino)ethylpyrrolidin-3-ylthio)]carbapenem Derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, 38.
- 8) Synthesis and Antibacterial Activity of 1 β -Methyl-2-(5-substituted oxadiazolopyrrolidin-3-ylthio)carbapenem Derivatives. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **2003**, 336.
- 9) Synthesis and Antibacterial Activity of 1 β -Methyl-2-(5-substituted imidazolinopyrrolidin-3-ylthio)carbapenem Derivatives. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **2003**, 336.
- 10) Synthesis and Antibacterial Activity of 1 β -Methyl-2-[5-(2-N-Substituted aminoethylcarbamoyl)pyrrolidin-3-ylthio]carbapenem Derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, submitted.

7. 특허출원

- 1) 피롤로(1,2-c)이미다졸이중고리를 가지는 1-베타메틸카바페넴 유도체와 그의 제조방법, 대한민국, 조정혁 외, 출원번호 01-49334, 출원일 2001.08.06.

- 2) 피롤로(1,2-c)이미다졸이중고리를 가지는 1-베타메틸카바페넴 유도체와 그의 제조방법, 대한민국, 조정혁 외, 출원번호 01-54467, 출원일 2001.09.15.
- 3) 신규 1-베타메틸카바페넴 유도체 및 그의 제조방법, 대한민국, 김동진 외. 등록번호 02-345465, 등록일 2002.07.09.
- 4) 신규 1-베타메틸카바페넴 유도체 및 그의 제조방법, 대한민국, 김동진 외. 등록번호 02-345468, 등록일 2002.07.09.
- 5) 신규 카바페넴 유도체 및 그의 제조방법, 미국, 김동진 외. 등록번호 02-6436921, 등록일 2002.08.20.

V. 연구개발결과의 활용계획

- 본 과제의 합성연구의 핵심인 1 β -메틸카바페넴 모핵과 C2 위치에 도입할 치환기의 합성기술을 보다 발전시켜 효율적인 신규 카바페넴계 화합물의 합성에 응용할 것임.
- 본 연구에서 도출된 선도물질 P91022의 약물동력학 시험 결과 우수한 특성을 나타내면 급성독성, CNS독성, 간독성, 신장독성 등 제반 독성시험을 실시할 것임.
- P91022의 구조변환으로 우수한 특성을 나타낸 P22010의 다양한 유도체를 합성하여 후보물질을 도출할 것임.

여 백

S U M M A R Y

I. Title

Development of Carbapenem Antibiotics with Broad Spectrum

II. Purpose and Importance of Research

Recently, 1 β -methylcarbapenems have received much attention because of their excellent biological and chemical behavior. Currently, a number of carbapenem antibiotics such as imipenem, panipenem and meropenem were launched on the market and several compounds are under clinical evaluation. However, some problems still remain in these compounds. Imipenem and panipenem are unstable to the renal dehydropeptidase-I (DHP-I) and have the convulsive side effect. Meropenem has good stability to DHP-I and an excellent spectrum against Gram-negative bacteria. However, it is relatively less active against Gram-positive bacteria than imipenem.

The aim of this research is to develop new 1 β -methylcarbapenem antibiotics, which is expected to be successful in the world market, possessing improved antibacterial activities, broad spectrums and lesser side effects than imipenem or meropenem. For this end, we examined *in vivo* protective and pharmacokinetics for new leading 1 β -methylcarbapenem antibiotics, which is derived from the first term project. Furthermore, we synthesized the back-up compounds for leading carbapenems and new carbapenems via chemical modification at C-2 side chain. These synthetic carbapenems were tested for antibacterial activity.

III. Contents and Scope

The leading carbapenem compounds (P-91014, P-91409, P-91022) showed quite promising possibility in terms of antibacterial activity, DHP-1 stability and primary pharmacokinetic parameters.

In this project, their *in vivo* protective test in mouse and pharmacokinetic test in rat, dog and monkey containing half lifetime, bioavailability were carried out. And also *in vitro* activity test for the back-up compounds and new

synthetic carbapenems was carried.

IV. Results and Discussion

Our results from in vivo protective and pharmacokinetic test for the new leading carbapenems and the efficacy study for resistant strains isolated from hospital were as following:

1. Synthesis of back-up compounds with broad spectrum

- Synthesis of new back-up compounds with acid, amidine, oxime by chemical modification of P91014.
- Six leading carbapenems were obtained and research to enhance the activity is in progress.

2. Synthesis of new carbapem derivatives with broad spectrum

- Synthesis of new carbapenems having oxime and bicycle as a side chain of pyrrolidine.
- Urea typed carbapenem derivatives were synthesized and their antibacterial activity test was carried out.

3. Efficacy study for P-91014, P91409, P91022

- For aerobic G-(+) bacteria all carbapenems tested showed excellent efficacy with 0% resistant rate.
- The efficacy sequence for aerobic G-(+) bacteria was IPM¹ > P91014 = P91409 > P91022 > MPM² > EPM³.
- In particular P91022 exhibits the best efficacy against *S. pneumoniae* among aerobic G-(+) strains.
- For aerobic G-(-) bacteria except *A. baumannii* and *P. aeruginosa*, all carbapenems tested showed excellent efficacy with 0% resistant rate.
- The efficacy sequence for aerobic G-(-) bacteria was MPM > P91022 > P91014 > EPM > 91409 > IPM.
- MPM exhibited the best efficacy with 11.7% resistant rate against *S. pneumoniae* among aerobic G-(-) strains, and IPM, P91022, P91014, P91409,

EPM displayed 18.3%, 20%, 50%, 50%. 68.3% resistant rates, respectively.

- For anaerobic G-(+) and G-(-) bacteria all carbapenems tested showed excellent efficacy with 0% resistant rate.
 - As a result, P91022 showed the best well-balanced efficacy against both G-(+) and G-(-) bacteria compared to marketed carbapenems.
- * IPM¹: Imipenem, MPM²: Meropenem, EPM³: Ertapenem

4. Pharmacokinetics for P91409 and P91022

- From rat test P91409 was 6 times longer than MPM for half lifetime and 5 times better than MPM for bioavailability. And P91014 was slightly inferior to MPM within error extent.
- Pharmacokinetics for P91022 was carried out in rat model.

5. Structural modification of P91022 and P21027

- P22011 was synthesized by the structural modification of P91022 and it showed excellent antibacterial activity and stability to DHP-I.
- P22007, P22010 with isoxazoline moiety by the structural modification of P21027 were selected as leading carbapenems due to excellent efficacy against ESBL G-(-) and MDR G-(-).

From our results, three domestic patents were to be applied and two domestic patents were registered. And also on SCI international journals nine papers were published and one paper was submitted.

V. Future Plan

The new leading carbapenems were found to have the excellent biological properties. Further advanced biological evaluation and intense structure optimization for above leading carbapenem compounds will be required and this will be subjected for the continuing research.

여 백

C O N T E N T S

Chapter I. Introduction.....	19
Chapter II. State of Arts.....	31
Chapter III. Contents and Result.....	37
1. Contents and Result.....	37
2. Experimental Part.....	99
Chapter IV. Accomplishment and Influence.....	167
1. Accomplishment.....	167
2. Influence.....	171
Chapter V. Future Plan.....	173
Chapter VI. References.....	175

여 백

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요.....	19
제 2 장	국내외 기술개발 현황.....	31
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과.....	37
제 1 절	연구수행 내용 및 결과.....	37
제 2 절	실험내용.....	99
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도.....	167
제 1 절	목표달성도.....	167
제 2 절	관련분야에의 기여도.....	171
제 5 장	연구개발결과의 활용계획.....	173
제 6 장	참고문헌.....	175

여 백

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목표

본 연구는 중점국가연구개발사업의 2단계 연구로 생리활성물질 개발사업단에 속하여 1단계에서 도출된 카바페넴계 선도물질을 중심으로 2천년대 세계 항생제 시장을 주도할 수 있는 차세대 내성균 감염질환 치료용 항생제 후보물질을 개발하기 위한 연구이며, 본 연구팀의 협동과제는 그람 양성균 및 그람 음성균에 모두 탁월한 효능을 나타내는 주사용 광범위 카바페넴 후보물질을 도출하는 것을 목적으로 하는 과제이다.

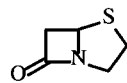
항생제란 미생물에서 유래된 것으로서 희석된 용액상태로 다른 미생물의 생육을 저해하거나 파괴할 수 있는 능력을 가지고 있는 화학물질로 정의 된다.¹ 항생제는 내성때문에 수명 (life cycle)이 10-15년 정도밖에 되지 않으므로 항상 내성에 강한 새로운 항생제가 끊임없이 발견되어야 한다.² 항생제로는 수천가지가 알려져 있으나 그 화학구조에 따라 일반적으로 aminoglycoside계, macrolide계, polyene계, peptide계, tetracycline계, polyether계, anthracycline계, nucleotide계, phosphoglycolipid계, β -lactam계 등으로 분류된다.

우수 항생제의 조건으로는 우선 활성이 강하고 항균범위가 넓은 항생제를 첫째 조건으로 한다. 또한 병원 미생물 중 MRSA와 *Pseudomonas*에 대해 강한 선택성이 있는 항생제 개발이 현재 가장 시급한 과제이다. 이러한 맥락에서 볼 때 β -lactam계 항생제는 인체에 부작용과 독성이 비교적 적고 그 항균 범위나 항균력이 우수하기 때문에 가장 널리 사용되고 있으며 세균이 세포벽을 구성하기 위해 amino acid를 연결해주는 과정의 transpeptidase 기능을 억제하여 bacteria의 세포벽 생합성을 억제 또는 저지하는 것으로 알려져 있다. β -Lactam 항생제의 항균작용은 bacteria 세포벽의 합성과 유지기능을 방해하는 것으로 보고되고 있다. 포유동물의 세포들과는 달리 bacteria와 같은 세포 유기체들은 매우 유동적이고 강한 세포벽을 가지고 있으므로 변화하는 pH, 온도, 삼투압 등의 조건하에서 생존할 수 있다. 이들 세포벽은 *N*-acetylmuramyl pentapeptide의 subunit가 연결된 peptidoglycan 고분자로 이루어져 있다. 이들 peptidoglycan 고분자는 *D,L*-amino acid들로 peptide bridge를 형성하여 강한 세포벽을 구성하므로, 세포 내외부의 염분의 농도차에 의해서 일어나는 삼투압을 유지할 수 가 있다. 이때 β -lactam 항생제는 Gram (+)과 Gram (-) bacteria의 target site에 비가역적이고 선택적으로 결합하여 peptidoglycan의 cross linking반응을 억제하게 된다.³

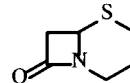
항생제 연구의 발전과정을 살펴보면 1940년대 penicillin, 1960년대 erythromycin, tetracycline, aminoglycoside계 항균제, chloramphenicol을 거쳐 1980년대 cephalosporin, quinolone, carbapenem으로 이어가고 있다. 2000년대에도 β -lactam계와 quinolone계 항균제의 개발이 활발히 진행될 것으로 사료된다. 더욱이 MRSA와 *Pseudomonas aeruginosa*를 위시한 기존 항생제에 내성을 나타내는 균주가 아직 정복되지 못한 상태이므로 현 시점에서 더욱 강력하고 광범위하게 작용하는 새로운 항생제의 개발이 절실히 요구되고 있다.

1940년대 A. Fleming에 의하여 페니실린⁴이 발견된 이래 β -lactam계 항생제는 항생제 분야에서 가장 중요하게 인식되고 있으며 자연계로 부터 새로운 β -lactam 계 항생제를 발견하고 이의 화학적인 변형을 통해서 보다 강력한 항균력을 지닌 항생제를 개발하기 위한 노력이 계속되어 왔다. 이와 같은 노력의 결과로 수많은 β -lactam 계 항생제가 개발되었으며 인간의 박테리아에 의한 감염증의 치료에 지대한 공헌을 하였다. 그러나 인간의 항생제의 사용이 급격히 증가함에 따라 항생제에 보다 저항성이 강한 내성균이 계속적으로 출현하고 있으며, 따라서 이에 대항할 수 있는 새로운 항생제의 개발은 필연적으로 계속 수행되어야 하는 과제가 되었다.

Classical

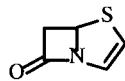


Penam(Penicillins)

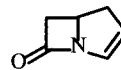


Cefem (Cephalosporins)

Nonclassical



Penem (Faropenem)



Carbapenem

그림 1. Clinically available β -lactams

페니실린으로 통용되는 penam의 구조를 갖는 항생제는 지금까지 각각 주사제 17개 경구용 15개가 개발되어 총 32개가 시장에 등장하였으며, 세파로스포린으로 통용되는 cefem의 구조를 갖는 항생제는 각각 주사제 26개 경구용 17개가 개발되어 총 43개가 상품화되었다. 반면에 penem은 경구용인 faropenem의 단 1개만이, 그리고 카바페넴의 경우에는 주사제인 이미페넴, 파니페넴, 메로페넴의 3개만이 제품화되어 사용되고 있다.

페니실린은 6-aminopenicillanic acid (6-APA), penicillin G, penicillin V등이

생물학적인 발효공법에 의하여 대량생산이 가능하며 이러한 물질을 출발물로 하여 새로운 페니실린계 항생제의 다양한 합성연구가 가능하였으며 저렴한 가격으로 생산이 이루어지고 있다. 또한 세파로스포린의 경우에도 생물학적인 발효공법에 의하여 7-aminocephalosporanic acid (7-ACA), phenoxymethylpenicillin으로 부터 7-amino-3-deacetoxycephalosporanic acid (7-ADCA) 등의 대량생산이 가능하여 다양한 새로운 세파로스포린계 항생제의 연구 및 저렴한 제품의 공급이 가능하게 하였다. 그러나, 페넴과 카바페넴의 경우에는 생물학적인 대량생산을 통한 중요한 중간물질의 제조에 성공하지 못하여 이에 대한 연구가 거의 전합성의 단계를 거쳐야 하는 어려움을 갖고 있다. 즉, 페니실린과 세파로스포린의 경우에는 자연계로 부터 β -lactam계 이중고리를 갖고있는 기본골격을 얻을 수 있는 반면에 페넴과 카바페넴의 경우는 그렇지 못하다는 것이다. 이는 페넴과 카바페넴의 분야에서 새로운 항생제에 대한 연구가 보다 어려운 반면, 역설적으로 새로운 항생제를 개발할 수 있는 가능성이 보다 높다고 할 수 있는 이유이기도 하다.

이미페넴은 *pseudomonas*를 포함한 그람 양성균과 그람 음성균에 모두 광범위한 항균활성을 나타내며 β -lactamase를 생성하는 균에 대한 저항성도 강한데 반해 역시 생체내에서 효소 (renal DHP-I)에 대한 안정성이 저조하여 renal DHP-I 억제제인 cilastatin과 병용하여 사용해야 한다. 뿐만 아니라 뇌경련 유발효과 (convulsive effect)가 크기 때문에 임상 의들에 의해서 제한적으로 사용되고 있으며⁵, 생체 내에서의 반감기가 다른 β -lactam계 항생제에 비하여 짧은 단점을 갖고 있다.

메로페넴은 이미페넴에 비하여 G(-)에는 더 강하고 G(+)에 조금 약한 활성을 나타내며 특히, *Pseudomonas* 균주에 대해서는 시험약 중 최고의 항균력을 나타내었다. 그러나 메로페넴도 생체 내에서의 반감기가 짧으며 상기한 바와 같이 그람 양성균에 대한 활성이 이미페넴에 비하여 낮은 점을 단점으로 지적할 수 있다.

이미페넴과 메로페넴의 구조-활성 상관관계에 대하여는 비교적 많이 연구되어 잘 알려져 있다.⁶⁻⁸ 그림 2는 메로페넴의 구조-활성 상관관계를 도식으로 나타낸 것이다. 즉, 1 β -메틸기는 카바페넴 모핵의 화학적인 안정성과 DHP-1에 대한 안정성을 유지하여 주며, 6 α -히드록시메틸기는 serine β -lactamases에 대한 안정성을 보장하여 준다. 또한 C-2 측쇄의 S-C-C-N의 골격은 thienamycin과 이미페넴 그리고 메로페넴에서도 유지되고 있으며 이는 경험적으로 *Pseudomonas* 균주에 대해서 가장 높은 활성을 보장하여 주는 것으로 알려져 있다. 이와 같은 점에서 볼 때 새로운 카바페넴계 항생제를 개발하기 위해서는 화학 구조적으로는 메로페넴의 경우와 같은 카바페넴 모핵을 유지한 채 C-2 측쇄를 변화시키는 것이 유일한 길로 생각된다.

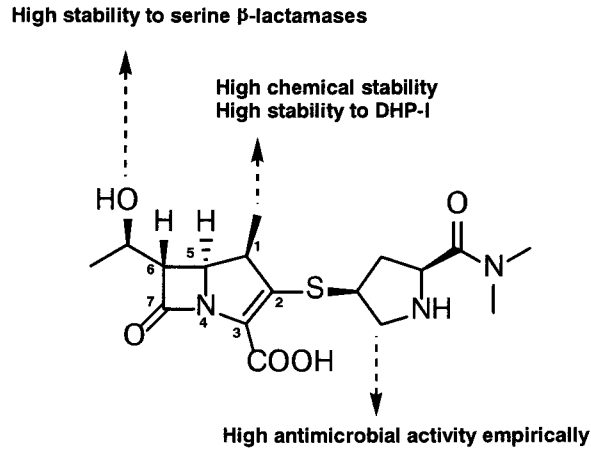


그림 2. Structure-Activity Relationship (SAR)

앞서 살펴본 바와 같은 관점에서 차세대 카바페넴 항생제가 갖추어야 할 조건으로는 다음과 같은 점을 제시할 수 있으며 본 연구가 지향하고 있는 방향이기도 하다.

- Excellent spectrum vs. both *G(+)* and *Pseudomonas*.
- Chemically high stability.
- High stability to DHP-1.
- Low convulsive effect.
- Long half life.
- Active to respiratory tract infection.

즉, 차세대 카바페넴은 그람 양성균에서는 이미페넴 이상이며 녹농균에 있어서는 메로페넴 이상의 항균력을 나타내며, 화학적으로나 생체내 DHP-1에 대하여 모두 안정하며, 뇌경련 유발효과가 낮으며, 긴 반감기를 갖으며, 호흡기 감염증에 탁월한 치료효과를 나타내야 한다. 이는 최근의 페니실린에 대한 강한 내성균들이 출현하고 있어 penicillin resistant *Streptococcus pneumoniae* (PRSP) 등이 유발하는 호흡기 감염증에 대한 특효약이 절실한 시점이기 때문이다

본 연구는 시판되는 이미페넴의 결점을 보완하는 동시에 메로페넴의 약효를 능가하며 약물동력학적인 면에서 기존의 카바페넴 항생제보다 우수한 신규 1 β -methyl 카바페넴 유도체를 합성함이 목적이다.

제 2 절 연구개발의 필요성

항생제는 전세계 의약품 시장의 20% 정도를 차지하는 거대시장으로 그 규모는 1998년 290억불이었으며 2001년은 약 320억불 정도로 예상되고 있다. Alexandr Fleming의 Penicillin발견이후 끊임없는 연구로 1980년대까지 인간은 대부분의 감염 질환에서 벗어나는 황금기 (Golden period)를 누렸으나 미국 유럽 등 선진 외국의 거대 제약 회사들이 기존의 항생제 연구 노력을 대량의 연구비와 장기간의 치료기간이 필요한 난치병 치료분야 연구로 전환하면서 항생제 연구는 세계적으로 공백기를 맞이하였다. 그러나 특정 효소나 수용체를 목표기관으로 삼는 대부분의 다른 질병과 달리 감염질환은 끊임없이 새로운 내성을 개발해 내는 미생물을 그 목표 대상으로 삼기에 이러한 공백은 인간을 다시 penicillin이전의 시대로 몰고 있다. 1996년 발표된 WHO의 통계에 따르면 전세계 전체 사망자 중 33%인 1,730만명이 감염 질환으로 인해 사망했으며 선진국인 미국에서도 감염질환이 사망원인의 3위에 위치할 정도로 대단히 심각한 상태이다. 이와 같은 감염성질환들의 내성증가로 인해 상당수의 기존 항생제들이 10년이내에 무용지물로 전락하여 용도폐기되는 상황에 직면할 가능성이 높아지고 있으나 신약개발에 별다른 진전이 없어 심각한 상황에 처해있다.

베타락탐계 항생제는 그 시장이 매우 크다는 것, 또 독성이 적고, 항균력이 우수하며, 합성법 및 구조-활성관계가 비교적 잘 알려져 있어 신약개발이 용이하다는 것, 그리고 지속적인 시장 성장률이 예상되고 있는 것과 같은 특징으로 인하여 그 비중이 점차 커지고 있다.

베타락탐계 항생제 연구의 변화 추이를 살펴보면 1950년 이후 Penicillin이 주도하다가 1980년까지 cephalosporin이 그 뒤를 이었다. 그러나 선진각국의 경쟁적 연구개발결과 주사용 세파계 항생제의 시장은 점점 포화단계에 이르고 있으며 이에 따라 강력한 항균작용과 약동력학적으로 우수한 특징을 지닌 항생제의 개발이 요구됨에 따라 카바페넴등과 같은 차세대 항생제 개발로 세계적인 연구의 방향전환이 이루어지고 있다.

현재 사용되고 있는 항균제에 대한 내성균주가 시간이 지남에 따라 점차 증가하고 있어 심각한 문제가 되고 있다. 특히 내성 문제가 심각한 것으로는 그람양성 구균 중에서 methicillin 내성 *Staphylococcus aureus* (MRSA), penicillin 내성 *Streptococcus pneumoniae* (PRSP), vancomycin 내성 *Enterococcus faecium* (VREFM) 등이고, 그람음성 간균 중에서는 extended-spectrum beta-lactamase 생성 *Escherichia coli*와 *Klebsiella pneumoniae*, AmpC beta-lactamase 생성 그람음성 간균, carbapenem 내성 *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. 등이다.

이들 내성 균주들의 국내 현황을 보면, MRSA는 70%, PRSP 78%, VREFM

17%이고, ESBL 생성 *E. coli*와 *K. pneumoniae*는 각각 10%와 26%, 변이된 AmpC beta-lactamase 생성 *Enterobacter cloacae*와 *Serratia marcescens*는 약 40%이다. Carbapenem 내성은 *Enterobacteriaceae* 중에는 드물지만, *P. aeruginosa* 중에는 19%, *A. baumannii* 중에 6%이다.

ESBL 생성 그람음성 간균에 의한 감염증 치료에는 제 3, 4세대 cephalosporin 제와 mono-bactam 등의 우수한 항균력을 가진 약제가 감수성 시험에서 시험관내 항균력이 있더라도 임상 효과는 없어서, 이들 세균에 항균력이 우수한 carbapenem 제의 사용이 증가하고 있다. 더욱이 최근에는 *E. coli*와 *K. pneumoniae* 이외의 *E. cloacae*, *S. marcescens* 등의 *Enterobacteriaceae* 중에도 ESBL 생성 균주가 증가하고 있고, 이러한 균주는 국내 대부분의 병원에 이미 적지 않음이 보고되어 매우 심각하다고 하겠다.

또한 주요 원내감염균인 *Citrobacter freundii*, *E. cloacae*, *S. marcescens* 등에서는 변이된 염색체성 AmpC beta-lactamase의 생성 비율이 증가하고 있고, 최근에는 *E. coli*와 *K. pneumoniae* 중에서도 plasmid 성 AmpC beta-lactamase를 생성하는 균주의 비율이 증가하고 있는데, 이들 세균에 의한 감염증 치료에 있어서도 제 3세대 cephalosporin의 임상 효과는 없는 것으로 알려져 있어 문제가 되고 있다.

최근 항균제의 개발은 beta-lactamase에 안정한 항균제, 항균범위가 확장된 beta-lactam 및 quinolone을 목표로 하고 있다. 그중 여러 종류의 beta-lactamase에 안정하며 항균범위가 넓은 제제로는 carbapenem제가 널리 알려져 있다. Carbapenem제 중에 현재 임상에 이용되고 있는 것은 imipenem과 meropenem인데, 이들은 *Stenotrophomonas maltophilia* 등이 생성하는 metallo-beta-lactamase에 대해서는 불안정하지만, 다른 여러 균종에 대해서는 탁월한 항균력을 갖고 있다. 그러나 imipenem은 dehydropeptidase-I에 불안정하여 cilastatin과 함께 투여해야 하는 단점이 있고, meropenem 보다는 그람음성 간균에 대한 항균력이 약하다. 한편 meropenem은 그람양성 세균에 대한 시험관내 항균력이 imipenem 보다 약한 것으로 알려져 있다.

본 연구진의 1단계 연구결과 도출된 광범위 카바페넴 선도물질들은 그람음성 간균에 대해서는 imipenem 보다, 그람양성 구균에 대해서는 meropenem보다 우수하였고, dehydropeptidase-I에 대해서도 매우 안정하여 현재 사용 중인 carbapenem 제의 단점이 보완된 약제라고 할 수 있다. 그러나 표주균주의 감수성은 임상분리주보다 높으므로 제 2단계로 임상검체에서 분리된 내성율이 높은 균주에 대한 항균력이 우수함이 밝혀져야 한다. 또한 최근에는 carbapenem에 내성인 *P. aeruginosa* 등의 그람음성 간균이 증가하고 있는데, 이러한 내성 균주들의 내성 기전은 균주에 따라서 다르므로 이들 균주에 대해서도 시험관내 항균력을 시험하여야 한다.

원내감염 (Nosocomial infection)의 주요 원인균인 MRSA는 1960년대 인간이 penicillinase를 생산하는 황색포도상구균에 의한 감염증을 치료하는데 methicillin을

사용한 후에 이에 내성을 획득한 균을 지칭하는 이름으로 사용되어 왔으나, 이후 penicillin을 포함한 β -lactam계 항생제, aminoglycoside, macrolide, quinolone 등 거의 모든 종류의 항생제에 대해서도 내성을 나타내어 vancomycin 만이 유일한 치료제로 남아 있었다. Vancomycin은 1960년대에 처음 개발되었으나 투여의 불편함과 red man syndrom 등의 부작용 등으로 초기에는 거의 사용되지 않다가 MRSA 치료제의 유일한 대안으로 사용되고 있었으나 이미 미국 일본등 전세계적으로 vancomycin에 대해 내성을 획득한 MRSA에 대하여 보고하고 있다. 최근 국내의 사망한 환자에서 기존의 어떤 항생제로도 치료가 불가능한 VRSA(Vancomycin-Resistant Staphylococcus Aureus; 일명 슈퍼박테리아)가 발견되어 사회적인 큰 문제로 대두된 바 있다. MRSA에 의한 감염은 치료가 어렵고 환자의 병원 내 입원기간을 연장시키며 치사율 또한 매우 높다. MRSA가 주요한 원인균인 원내 감염의 경우 미국에서만도 매년 2만명 이상의 환자가 발생하며 이에 대한 치료 비용으로 60억불 이상이 소요되고 있다. 이와 같이 항생제에 대한 내성이 점차 확대되고 이에 대한 시장이 급격히 확대됨에 따라 선진 제약회사들의 내성균에 대한 연구도 다시 활발히 진행되고 있다. 그러나 세균의 경우 위에서도 설명했듯이 항시 새로운 기전을 통하여 새로운 약물에 대하여 내성을 나타내게 되므로 내성을 영원히 피할 수 있는 약은 존재할 수 없으며 인간은 항상 새로운 균을 상대할 더 우수한 약효의 항생제를 연구해야 한다.

가. 연구개발의 경제·사회·기술적 필요성

○기술적 측면

- 유경험의 우수한 연구인력 확보.
- 핵심 합성기술 확립.
- 신물질창출 및 평가기술 확립.
- 선행연구로 유망선도물질 가시화.
- 상대적으로 성공가능성이 높은 의약품.

국내의 신약개발수준은 아직 선진 다국적기업의 수준에 비하면 경험적인 면에서 아직 초기단계라 할 수 있으나 국가의 지속적인 연구 개발 의지로 G7 1, 2단계 연구사업 및 1단계 국가중점연구개발사업을 수행한 결과, 국내 신약 1호가 등장하였으며 외국 제약회사에 기술을 수출하는 등 가시적인 결과가 속속 도출되고 있다. 이와 같은 경험을 바탕으로 기초가 잘 확립되어 있어 꾸준한 연구개발비의 투자와 국가적인 관심이 지속된다면 여러 분야에서 신약개발 성공 가능성이 매우 높다고 할 수 있다. 신규 물질을 개발하여 이를 의약품으로 완성하기까지에는 합성에서 출발하여 이의 약효검색, pharmacokinetics 연구, 독성연구, metabolite 연구, 임상

시험에 이르기까지 10년여의 기간과 막대한 연구비가 투자되어야 하는 사업이다. 과학기술부는 물질특허 도입 1년전인 1986년부터 정부출연연구소를 중심으로 특정 연구개발 사업을 추진하여 왔고 이 사업을 통하여 국내 의약산업의 신물질 창출연구의 씨앗을 심어 왔다. 정부출연연구소나 신약조합 산하 제약회사들은 특정 연구개발사업 수행 시 국내에서 약효검색, 약물동력학시험 등 비교적 기술을 습득하기 용이한 항생제 개발연구를 그 주된 연구분야로 선정하여 체계적이며 지속적인 기술개발 및 시설을 보충하여 그 어느 분야보다도 연구환경이 좋은 상황이다. 항생제 중에서도 시장성 면이나 개발 가능성에서 가장 유리한 베타락탐계 항생제 연구가 첫번째의 목표로 정해져 출연연구소 등에서 폭넓은 연구가 진행되었다. 그 결과 다수의 유망물질들이 합성되었고 우수한 후보물질이 외국 유명 제약회사에 기술수출되는 등 신의약 연구의 토대가 되었다.

카바페넴계 항생제 분야는 정부출연연구소와 학계 및 산업계에서 꾸준히 수행되어 온 과제로써 이미 DK-35C (KIST-동국제약)와 IH201 (KIST-일화)이 전임상 단계의 연구가 진행 중이고, 그외 제약회사의 연구결과 수종의 후보물질이 도출되는 등, 잠재적인 우수한 유망 후보물질이 가시화되고 있는 실정이다. 구체적으로 카바페넴 항생제의 합성에 핵심이 되는 카바페넴엔올포스페이트의 합성기술은 본 연구진의 경우 수백그램의 다량제조기술이 확보되어 있는 상태이며, 약효검색, 독성검사, 약물동력학적시험 등 제반 항생제 평가기술도 확립되어 있다. 특히 본 연구진의 본 과제 1단계 연구 결과, 1000여종의 신규 카바페넴을 합성하여 효율적인 합성기술을 보유하고 있으며, 이들 중 매우 우수한 특성을 나타내는 수종의 광범위 카바페넴 및 항MRSA 카바페넴 선도물질이 가시화되어 있어 이들 계열의 신규물질에 대한 연구에 집중할 경우, 보다 단기간 내에 성공할 가능성이 높은 연구과제이다.

기술적으로도 신규 카바페넴계 항생제 개발은 국내 의약산업 전반에 미치는 효과가 지대하여 작게는 유기합성, 제반 항생제 효능 평가분야에 크게 기여하게 되며 기술이 파급되면 국내 의약산업 전반에 신규 항생제 합성 및 개발을 촉진하게 된다.

○경제. 산업적 측면

- 항생제 개발의 최적기.
- 가장 이상적인 항생제.
- 극소수의 제품만이 상품화.
- 급격한 매출 신장 예상.
- 라이선싱으로 고액의 로열티 수입 가능.
- 세계시장 독점 가능.
- 수입대체 및 수출 효과.

항생제는 전세계 의약품 시장의 20%를 차지할 정도로 큰 시장성과 다른 의약품에 비해 비교적 짧은 개발기간 그리고 앞서 언급한 대로 비교적 간단한 *in vitro*, *in vivo* 의약 활성 시험 및 독성 시험 기간을 거치므로 기술과 자본의 기반과 역사가 짧은 국내 의약산업이 연구를 수행하기에 매우 적합하다 할 수 있다. 항생제 연구가 성공할 경우 하나의 신물질 개발로 일약 세계적인 기업으로 부상하게 된다. 즉, 우리도 가장 유망한 분야인 항생제 개발로 세계를 우리 시장화할 수 있는 것이다. 또하나 우리에게 고무적인 것은 미국과 유럽등 선진국들의 의약 산업이 큰 연구비와 장기간의 연구기간이 소요되는 고혈압, 중추 신경계 약품 연구로 서서히 전환하고 있어 항생제 연구는 일본을 거쳐 우리의 손으로 넘어오고 있는 것이다. 일본도 이제는 선진국형의 연구에 눈을 돌리기 시작했으므로 우리나라가 항생제 연구를 주도할 최적기를 맞고 있는 것이다. 항생제 연구의 변화 추이를 살펴보면 1950년 이후 penicillin이 주도하다가 1980년까지 cephalosporin이 그 뒤를 이었고, 1980년말부터 화학 합성으로 출발한 quinolone이 그 우수한 효과와 생산 단가로 각광을 받았다. 그러나 Quinolone은 그 독성이 여타 항생제에 비하여 심각하며, 15세 이하의 소아에게 사용되지 못하는 단점이 표출되었다.

1990년 들어 월등한 효능과 안정성을 가진 자연계 출신의 carbapenem이 등장함으로써 큰 기대를 모으고 있다. 우수 항생제의 조건으로는 우선 활성이 강하고 항균범위가 넓은 항생제를 첫째 조건으로 한다. 또한 병원 미생물 중 MRSA와 *Pseudomonas*에 대해 강한 선택성이 있는 항생제 개발이 현재 가장 시급한 과제이다. 이러한 맥락에서 볼 때 β -lactam계 항생제는 인체에 부작용과 독성이 비교적 적고 그 항균 범위나 항균력이 우수하기 때문에 가장 널리 사용되고 있다. 특히, 이미페넴과 메로페넴으로 대표되는 카바페넴은 β -lactam계 항생제 중에서도 가장 최근에 발견되어 개발되고 있는 의약품으로서 그람 양성균, 음성균 모두에 광범위하고 강력한 약효를 나타내고 있으며, 특히 각종 내성균주에도 탁월한 효과를 보여주고 있어 가장 이상적인 차세대 항생제로 주목받고 있다. 의약계의 전망도 1990년대 이후에는 carbapenem계 항생제의 신장세가 가장 돋보일 것으로 나타나고 있다.

β -Lactam계 항생제 중에서 페니실린으로 통용되는 penam의 구조를 갖는 항생제는 지금까지 각각 주사제 17개 경구용 15개가 개발되어 총 32개가 시장에 등장하였으며, 세파로스포린으로 통용되는 cefem의 구조를 갖는 항생제는 각각 주사제 26개 경구용 17개가 개발되어 총 43개가 상품화 되었다. 반면에 penem은 경구용인 faropenem의 단 1개만이, 그리고 카바페넴의 경우에는 주사제인 imipenem, panipenem, meropenem의 3개만이 제품화되어 이미페넴과 메로페넴만이 주로 사용되고 있어 우수한 화합물이 개발되면 시장성이 매우 좋아 개발에 유리한 것이 무엇보다 큰 장점이다.

1994년 primaxin (이미페넴의 상품명)은 연간 매출액 5억 1천 5백만 불로 주사제 항생제로는 2위이며 전체 항생제로는 7위의 급격한 성장세를 유지하였다. 1996년도에는 전세계 시장에서 5.5억불의 매출액을 기록하였으며 1996년 국내시장에 진출하여 연간 약 100억원의 매출액을 기록한 이래, 현재까지 연간 약 150억원의 매출액을 기록하고 있다. 메로페넴은 1994년 일본과 영국에서 시판되기 시작하여 1996년에 약 5천만불의 매출을 기록하였으며 매년 약 30%의 급격한 성장세를 유지하고 있다.

표 1. 카바페넴의 세계시장 규모^a (백만불)

	1995	1996	1997	1998	1999	2000 ^b
이미페넴	560	560	530	520	510	500
메로페넴	20	50	100	135	180	235

^aScrip's yearbook

^b추정치

○사회. 문화적 측면

- 사회의 고도화와 분화에 따른 보험수가 증가.
- 환경오염과 생태계 파괴로 건강 위협.
- 강력한 치료효과의 항생제 개발에 대한 사회적 요구.
- 강력한 내성균주의 지속적인 발현.
- 항생제의 짧은 수명으로 인한 신규제품 개발 요구.

지금까지 많은 항생제가 개발되어 통용되고 있으나 사회가 고도화되고 분화됨에 따라 환자들의 보험수가 점점 늘어가고 있다. 한편 경제발전에도 따른 환경오염

과 그로 인한 생태계의 파괴는 인간의 건강에 더욱 위험적 요소가 되어가고 그에 따른 새로운 질병들이 유도되고 있다. 이러한 사회적 환경의 변화에 의해 더욱 강력한 치료효과를 내는 항생물질의 개발이 요구되게 되었으며 장기간 약효가 발휘되는 의약품의 연구가 수행되고 있다. 카바페넴은 안전한 β -lactam계 항생제 중에서는 가장 강력한 약효를 지니고 있어 사회적 측면으로 볼 때 그 개발이 매우 중요하다 할 수 있다. 항생제는 내성때문에 수명 (life cycle)이 10-15년 정도밖에 되지 않으므로 항상 내성에 강한 새로운 항생제가 끊임없이 발견되어야 한다. 1940년대 A. Fleming에 의하여 페니실린이 발견된 이래 β -lactam계 항생제는 항생제 분야에서 가장 중요하게 인식되고 있으며 자연계로 부터 새로운 β -lactam계 항생제를 발견하고 이의 화학적인 변형을 통해서 보다 강력한 항균력을 지닌 항생제를 개발하기 위한 노력이 계속되어 왔다. 이와 같은 노력의 결과로 수많은 β -lactam계 항생제가 개발되었으며 인간의 박테리아에 의한 감염증의 치료에 지대한 공헌을 하였다. 그러나 인간의 항생제의 사용이 급격히 증가함에 따라 항생제에 보다 저항성이 강한 내성균이 계속적으로 출현하고 있으며, 따라서 이에 대항할 수 있는 새로운 항생제의 개발은 필연적으로 계속 수행되어야 하는 과제가 되었다.

여 백

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국외 기술개발 현황

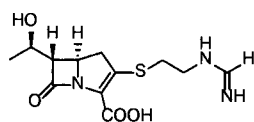
1976년에 Woodward는 penem의 구조를 제안하였으며⁹, 또한 Merck & Co사의 연구팀에 의해 *Streptomyces cattleya*에서 분리된 최초의 비고전적 β -lactam 항생제인 thienamycin이 알려지면서 β -lactam 항생제 연구는 새로운 전기를 맞게 되었다.¹⁰

Thienamycin은 구조상 C-6 위치에 1-(R)-hydroxyethyl기를 갖고 있으며 C-6 위치에 치환체가 없는 경우에 비해 일반적으로 10배 이상의 높은 항균력을 보이고 있고 C-5와 C-6의 수소 원자는 고전적인 β -lactam계 항생제 등과는 다르게 *trans*형이며, C-6위치에 amino기가 없고 C-2위치에 cysteamine 잔기가 있는 구조적인 특징을 가지고 있다.¹¹ 그러나 thienamycin은 탁월한 효력을 보여주는 반면 화학적으로 불안정하여 의약품으로 개발되지 못하였으며 많은 화학적 변형을 통해 유사 화합물들이 다수 합성되게 되었다.

그 이후 clavulanic acid (1976), olivani acid (1976), epithienamycin (1977), PS-5 (1979), SF 2103 (1982) 및 pluracidomycin (1982) 등이 보고 되었으나 대부분이 화학적으로 불안정하여 임상에 부적합한 것으로 나타났다. Merck사는 thienamycin 유도체에 대한 연구를 계속하여 1979년 드디어 최초의 카바페넴계 항생제인 N-formimidoly thienamycin (imipenem, MK-0787)¹²을 개발하여 1986년부터 시장에 진출하게 되었다. 그러나 이미페넴은 신장에서 분비되는 dehydropeptidase-I (DHP-I)이라는 효소에 의해 쉽게 불활성화됨으로 이를 방지하기 위해 DHP-I inhibitor인 cilastatin을 함께 사용해야만 하며 중추신경계에 대한 독성이 문제시 되는 단점¹³을 지니게 되었다. 이 문제를 해결하기 위한 노력의 결과로 드디어 1983년 Merck 연구팀들은 C1 위치에 methyl기를 도입한 1 β -methyl carbapenem을 합성하여 DHP-I inhibitor를 필요로 하지 않는 카바페넴 항생제의 신기원을 이루게 되었으며, 또한 C-1위치에 여러 종류의 치환기가 도입되어 항균 활성과 화학적 및 DHP-I에 대한 안정성이 비교 되었다.¹⁴

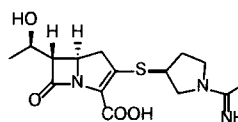
수많은 1 β -methylcarbapenem이 합성되어 개발 중에 있으며, 1984년 일본 Sumitomo사에서 개발하여 영국 Zeneca가 licencing한 SM-7338 (meropenem)¹⁵이 1994년 시장에 진출하였다. Thienamycin 유도체로 일본 Sankyo사가 1987년 개발한 Panipenem도 1993년 시판을 시작하였으나 이미페넴에 비하여 특징적인 장점이 없으며 뇌경련 유발효과가 높아 임상적으로 널리 사용되지 못하고 있다. Zeneca와 Merck사가 2001년에 luanch한 Ertapenem은 ESBL, AmpC 등에는 우수한 효능을

나타내나 *Pseudomonas* 균주에 대한 효능에 약점을 가지고 있다.



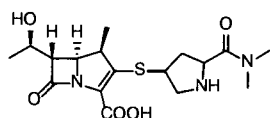
Imipenem (Merck, 1986)

- o. Chemically & DHP-1 unstable (with cilastatin)
- o. Convulsive effect
- o. Short half life



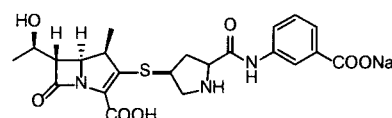
Panipenem (Sankyo, 1993)

- o. Convulsive effect
- o. Renal toxicity (with betamipron)



Meropenem (Sumitomo/Zeneca, 1994)

- o. Weak G(+)
- o. Short half life (1hr)



Ertapenem (Zeneca/Merck, 2001)

- o. Weak *Pseudomonas*
- o. Mixed bacterial infections
- o. long half life (4hr)

그림 3. 시판 중인 카바페넴 항생제 및 그 약물학적 특징.

1. 주사용 카바페넴

일본 Lederle 사가 개발 중이던 biapenem은 *Pseudomonas* 균주에 대해서 우수한 활성을 나타내었으나 최근 임상 단계에서 개발이 중단된 것으로 알려졌다.

Merck사의 일본 현지 법인사인 Banyu사의 BO-2727은 *Pseudomonas* 균주를 목표로 개발 중이며 메로페넴에 비하여 동등 또는 그 이상의 활성을 나타낸다. 또한 여러 형태의 β -lactamase에 대해서도 좋은 내성을 나타내며 DHP-1에 대한 안정도도 메로페넴을 능가하는 것으로 보고¹⁶되어 있으나 여러 가지 이유로 개발이 중단된 상태로 예상된다.

미국 Merck사의 ZD-4433 (Ertapenem)은 다중 내성을 갖고 있는 임상균주를 대상으로 개발 중에 있으며 그람 음성균에 대해서는 이미페넴보다 우수하며 그람 양성균에 대해서는 이미페넴보다 열등한 것으로 보고되어 있다. 이는 현재 임상시험을 완료하고 미국 FDA의 승인을 얻어 시판 중에 있다.¹⁷

일본의 Eisai사에서 개발 중인 ER-35786은 *Pseudomonas* 균주를 목표로 하고 있으며 현재 개발 중인 후보물질 중에서 *Pseudomonas* 균주에 대해서 가장 좋은 활성을 보여주고 있다. 또한 그람 양성균에 대해서는 이미페넴보다는 못하지만 메

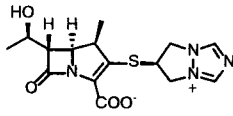
로페넴보다 우수한 활성을 나타내며 *Pseudomonas* 균주에 대해서 메로페넴보다 우수하고 그 외의 그람 음성균에 대해서는 메로페넴보다 낮은 활성을 나타낸다. 또한 DHP-1에 대한 안정도도 메로페넴보다 다소 우수하며, 중추신경계 및 신장에 대해서도 낮은 독성을 보여준다. 특히 이 물질을 염산염의 형태는 물-에탄올의 용매에서 결정성이 좋으며 이와 같이 결정으로 분리하였을 시 55 °C에서 1개월 동안 안정한 상태를 유지하였다고 보고되어 있다.¹⁸⁻²⁰ 그러나, 이 화합물은 합성에 문제점을 가지고 있으며 1999년 임상 1단계 이후 진행에 대한 보고가 없는 상태이다.

일본 Fujisawa 사에서 개발 중인 FR-21818은 *Pseudomonas* 균주에 대해서는 메로페넴에 비하여 다소 낮은 활성을 나타내나 그람 양성균에 대해서는 메로페넴보다 우수하며 특히 MRSA에 대해서 메로페넴보다 우수한 활성을 나타낸다. 또한 DHP-1에 대한 안정도도 메로페넴 보다 다소 우수하며 ER-35786과 같이 물-에탄올의 용매에서 결정성이 좋은 장점을 갖고 있다. 그러나 뇌경련 유발효과가 이미 페넴과 메로페넴의 중간 정도로 상당히 높은 편이며 monkey에서의 약물동력학적 자료치가 저조하다.²¹

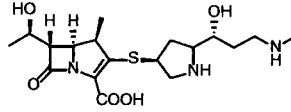
일본의 Shionogi 사가 개발 중인 S-4661은 현재 임상 2단계를 진행중에 있다. S-4661은 그람 양성 및 그람 음성의 임상균주에 대하여 전반적으로 넓은 스펙트럼을 나타내고 있으며, 메로페넴과 마찬가지로 β -lactamase에 대해서 큰 안정성을 보인다. 녹농균에 대해서는 메로페넴에 비하여 동등 이상의 활성을 나타내며 특히 녹농균에 대한 내성 발현이 이미페넴이나 메로페넴에 비하여 낮은 장점을 갖고 있다. 또한 glycopeptide계 항생제인 vancomycin이나 teicoplanin과 병용투여하였을 시 MRSA에 대하여 시너지효과를 나타내었다. 사람에서의 약물동력학적 실험에서도 메로페넴과 거의 동등한 수치를 나타내었으며, 제반 독성실험에서도 안전한 결과를 나타내며, 특히 뇌경련 유발효과에 대한 실험에서는 카바페넴계 비교약물에 비해서 가장 안전한 결과를 나타내었다. 방광염과 신우염 등의 요로질환과 호흡기질환에 대한 치료제로 개발이 추진되고 있었으나,²² meropenem과 약효면에서 동등한 정도이며 oxazolidinone이 등장한 이후 특별한 장점이 없는 관계로 2000년 임상 3단계 이후에 별다른 보고가 없는 상태이다.

앞에서 살펴본 바와 같이 개발 중인 카바페넴 항생제들이 효능이나 독성 및 합성의 난점 등의 문제점으로 인하여 거의 대부분 개발이 중단되었거나 중단될 상황에 있다. 따라서, 이들의 문제점을 보완하고 우수한 장점을 가지는 새로운 카바페넴 항생제 개발이 절실한 시점에 와 있다.

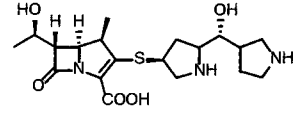
Parenteral



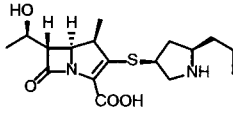
Biapenem (Lederle)



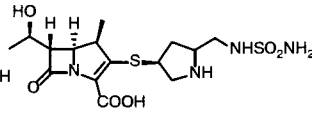
BO-2727 (Banyu)



ER-35786 (Eisai)

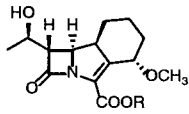


FR-21818 (Fujisawa)

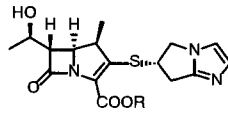


S-4661 (Shionogi)

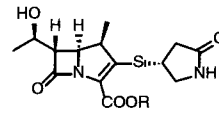
Oral



Sanfetrinem Cilexetil (Glaxo)



DZ-2640 (Daiichi)



CS-834 (Sankyo)

그림 4. 개발 중인 카바페넴 항생제

2. 경구용 카바페넴

임상 3단계가 진행 중인 것으로 알려진 Sanfetrinem cilexetil (Glaxo-Wellcome 사)이 1997년말에 독성 등의 문제로 개발 중단 되었고, 임상 2상에 있었던 DZ-2640²³ (Daiichi사) 및 double ester prodrug 형태로 개발이 진행되고 있었던 CL-191,121 (Cyanamide사) 역시 개발이 중단된 상태이다.

CS-834²⁴ (Sankyo사)는 parent 화합물 (R-83201)의 약효가 녹농균을 제외하고 Imipenem 및 Panipenem과 동등하며, 세파로스포린 내성균에 우수한 약효, 높은 경구흡수도를 나타내고 있어서 현재 임상 2상에 착수되어 있다.

표 2. 시판 중이거나 개발 중인 주요 카바페넴 항생제

Compound	Manufacturer	Status
Imipenem	Merck	Launched 1985
Panipenem	Sankyo	Launched 1993
Meropenem	Sumitomo/Zeneca	Launched 1994
CS-834	Sankyo	Phase II
Ertapenem	Zeneca/Merck	Launched 2001

3. 항 MRSA 카바페넴

MRSA를 목표로 하는 카바페넴 항생제에 대한 연구는 미국의 Merck사에 의해 10여년간 추진되어 10여종의 후보물질들을 도출하였으나 독성 등의 문제로 인하여 현재는 개발이 중단되어진 것으로 알려져 있다. 그러나 최근에 항MRSA형 카바페넴 분야에 있어 일본의 Banyu사를 중심으로 주목할 만한 연구가 진행되고 있다. 이는 지금까지의 MRSA를 목표로 하는 카바페넴의 구조와 전혀 다른 접근법을 보여주고 있으며 기존의 녹농균을 목표로 하는 피롤리딘티오 구조를 유지하며 피롤리딘의 측쇄에 매우 lipophilic한 치환기를 도입하여 녹농균 및 MRSA에 모두 약효를 나타내는 카바페넴을 개발하고자 하는 것이다. 이중 J-111,225와 J-114,870이 가장 우수한 특성을 나타내고 있으며 in vitro에서 MRSA에 대해서는 vancomycin과 동등하며 녹농균에 대해서는 이미페넴과 동등한 수준의 약효를 나타내었다.²⁶ 이들 화합물은 현재 전임상 연구가 진행되고 있는 것으로 알려져 있다.

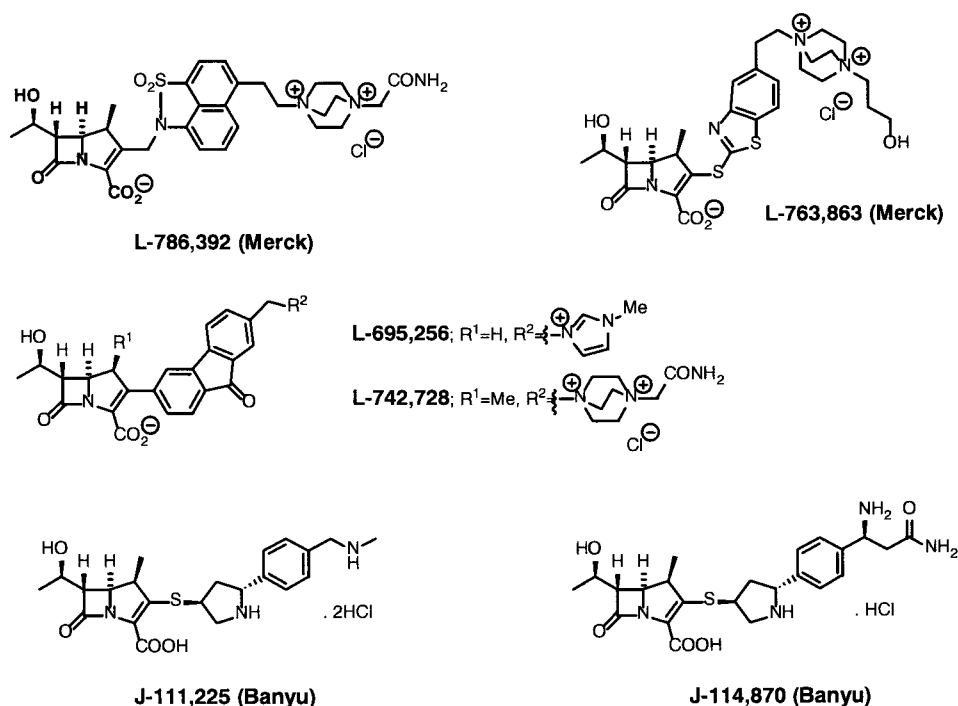
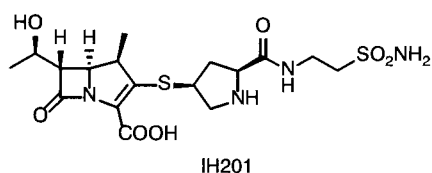


그림 5. 개발 중인 항MRSA형 카바페넴

제 2 절 국내 기술개발 현황

국내의 카바페넴에 대한 연구는 1992년도 G7 프로젝트의 일환으로 시작하여 KIST를 비롯하여 KRICT, 동아제약, LG 화학, 중외제약, 종근당 등에서 후보물질이 개발되었으나 여러 가지 이유로 인하여 KIST와 (주)일화가 공동개발 중인 IH201만이 전임상단계의 연구를 추진 중에 있다.



IH201은 그람 양성균 및 그람 음성균에서 전체적으로 메로페넴과 동등한 활성을 나타내며 특히 생체이용율에 관한 동물시험에서 메로페넴에 비해 월등히 우수한 성질을 나타내었다. 또한, 뇌경련, 급성독성, 신장독성 등에 대한 동물시험에서 안전한 약물임을 보여주고 있다.²⁷

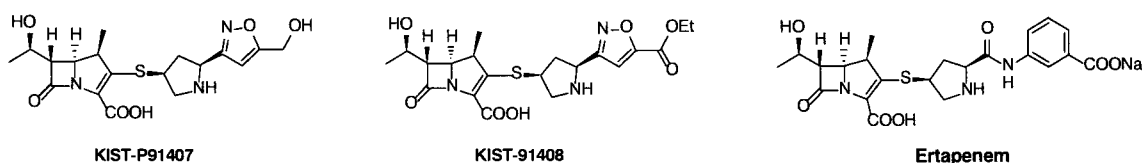
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 연구수행 내용 및 결과

PART A

1. 이소옥사졸릴피롤리딘티오, 이소옥사졸로카바모일피롤리딘티오 1 β -메틸카바페넴에 관한 연구

본 연구실에서 합성한 KIST-P91407과 KIST-91408은 친지질성인 이소옥사졸을 도입하여 그람 양성균에 활성을 가지는 것을 목표로, 친수성기인 히드록시기를 도입하여 그람 음성균에 활성을 가지는 것을 목표로 합성하였다. 그 결과 그람 양성균에서는 메로페넴보다 좋은 활성을 그리고 그람 음성균에서는 메로페넴과 거의 동등한 활성을 보여 주었으나 녹농균에서는 저조한 활성을 나타냈다.



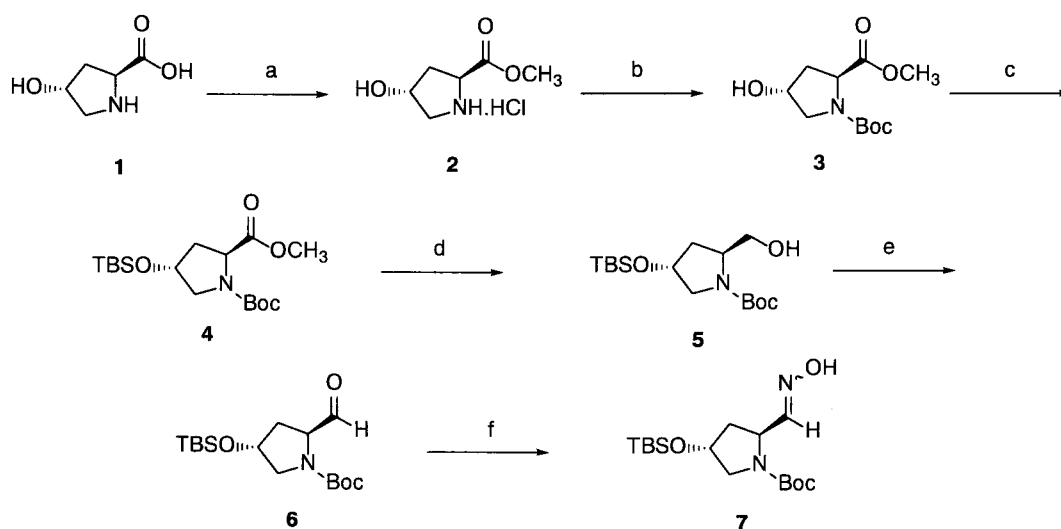
따라서 본 연구에서는 KIST-P91407과 KIST-91408이 나타내는 그람 양성균에서의 활성과 Ertapenem이 나타내는 그람 음성균의 활성을 동시에 나타내고자 하는 카바페넴으로서 이소옥사졸릴피롤리딘티오 1 β -메틸카바페넴을 합성하고자 하였다.

또한 C-2' 위치에 카바모일 이소옥사졸 치환체를 가지는 카바페넴과 카바모일 이소티아졸 치환체를 가지는 카바페넴을 합성하고 서로 이들의 상호관계를 비교하여 DHP-1 및 그밖의 여러 균주들에서 그 구조와 활성을 가지는 카바페넴을 합성하여 알아보하고자 하였다.

가. 옥심의 합성

이소옥사졸을 합성하게 될 전구체인 옥심은 *trans*-hydroxy-*L*-proline 1로부터 합성한다. *trans*-hydroxy-*L*-proline 1의 카르복시기를 메틸에스테르로 변환 후, 아미노기를 Boc으로 보호하여 화합물 3을 합성한다. 화합물 3의 히드록시기를

TBDMS로 보호한 다음 에스테르를 sodiumborohydride와 lithium chloride로 환원하여 화합물 5를 합성한다. 화합물 5는 pyridine sulfurtrioxide complex와 DMSO, triethylamine을 CH₂Cl₂ 용매하에서 산화시켜서 더 이상의 정제과정을 거치지 않고 hydroxylamine을 이용하여 알데히드를 옥심으로 변환하여 이소옥사졸 전구체인 옥심 화합물 7을 합성한다.



Reagent and reaction conditions (a) AcCl, MeOH, reflux, 7h (98%) (b) (Boc)₂O, CH₂Cl₂, rt, 2h (70%) (c) TBDMSCl, imidazole, DMF, rt, 2h (90%) (d) NaBH₄, LiCl, THF, EtOH, 0^oC-rt, 8h (85%) (e) pr.SO₃, TEA, DMSO, CH₂Cl₂, -5^oC, 20min (85%) (f) NH₂OH.HCl, pyridine, EtOH, rt, 18h (78%)

Scheme 1. 옥심 7의 합성

먼저 *trans*-hydroxy-*L*-proline 1을 MeOH에 용해하고 AcCl을 천천히 적가한다. 이 혼합 용액을 8시간 동안 가열환류한 뒤 냉각시켜서 용매를 적당히 감압 농축한 뒤 ether로 재결정하면 화합물 2를 얻는다. 이 화합물 2의 아미노기를 보호하기 위해 무수 CH₂Cl₂에 용해시키고 triethylamine을 적가한 다음 Di-*t*-butyldicarbonate를 가한다. 그리고 상온에서 2시간 동안 교반하여 반응이 종결되면 물로 씻어 추출하여 아미노기에 보호된 화합물 3을 합성한다. 화합물 3의 히드록시기를 보호하기 위하여 실릴기를 도입하는데 이를 DMF에 용해한 다음 imidazole을 적가하고 *t*-butyldimethylsilylchloride를 적가한다. 상온에서 2시간 동안 교반하고 반응이 종결되면 이 혼합용액을 과량의 물과 EtOAc로 추출한 다음 용매를 감압 농축하여 제거한 다음 column chromatography 방법으로 정제하여 실릴기로 보호된 화합물 4를 얻는다.

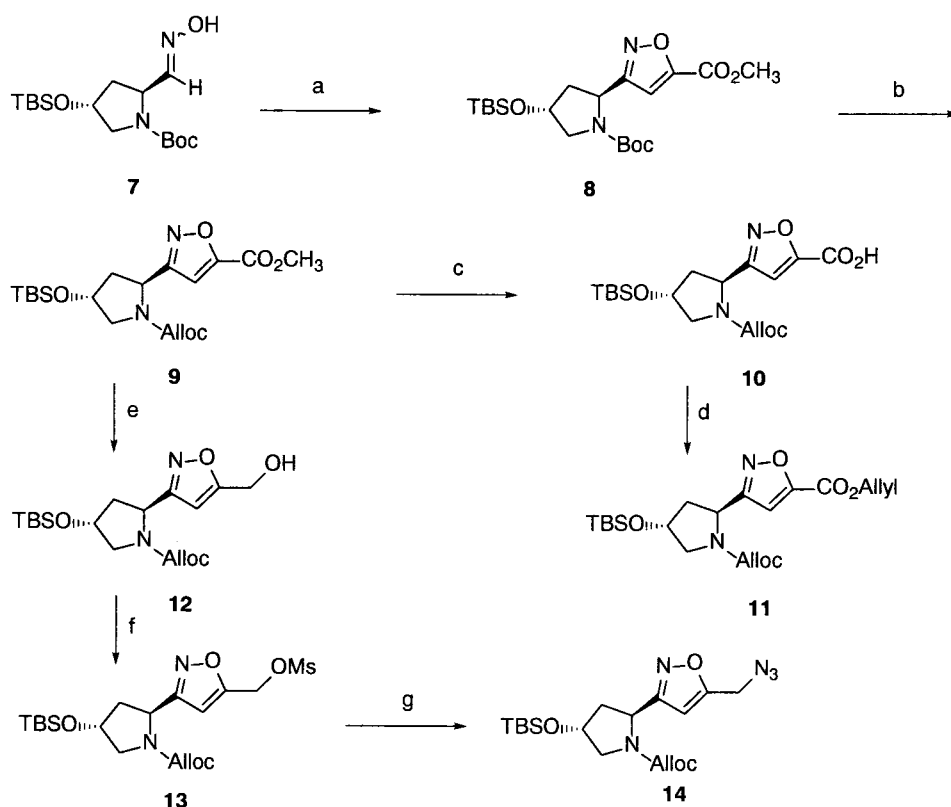
화합물 4를 THF에 용해시키고 sodiumborohydride와 lithium chloride를 적가하고 0 °C에서 30분 동안 교반한 다음 EtOH를 천천히 적가한다. 온도를 실온으로 올려 8시간 동안 교반한 후 ammonium chloride 수용액을 적가하여 반응을 종결시킨 다음 혼합 용액을 감압 농축하여 물과 EtOAc로 추출한 다음 용매를 감압 농축하여 제거하면 에스테르가 히드록시기로 환원된 화합물 5를 얻는다. 화합물 5를 산화시키기 위하여 무수 CH₂Cl₂에 용해시키고 triethylamine을 적가한다. 여기에 pyridine sulfurtrioxide complex를 DMSO에 용해시킨 용액을 -5 °C에서 천천히 떨어뜨린다. 다 적가한 뒤 20분간 더 교반하여 반응이 종결되면 물과 CH₂Cl₂로 추출한 뒤 용매를 감압 농축하면 알데히드 화합물 6을 얻는다.

알데히드 화합물 6은 불안정하기 때문에 더 이상의 정제과정 없이 바로 반응을 시키게 되는데 여기에 EtOH로 용해시킨 다음 pyridine을 적가하고 hydroxylamine hydrochloride를 적가한 뒤 상온에서 18시간 동안 교반한다. 그리고 반응이 종결되면 용매를 감압 농축하여 제거한 다음 물을 넣어 2시간 동안 교반하면 흰색 고체의 결정이 생긴다. 이를 여과하면 이소옥사졸 전구체인 옥심 화합물 7을 얻는다.

나. 이소옥사졸릴피롤리딘티오의 합성

옥심 화합물 7을 methylpropiolate를 사용한 1,3-dipolarcyclo addition 반응을 이용하여 이소옥사졸 화합물 8을 합성한 뒤 카바페넴의 모핵에 있는 보호기인 alloc과 같은 보호기로 치환하기 위하여 Boc을 trifluoroaceticacid로 제거한 후 allylchloroformate를 이용하여 다시 alloc으로 아미노기를 보호하였다. 이와 같이 실험을 한 이유는 alloc으로 보호하면 1,3-dipolar cyclo addition 반응에서 alloc에 있는 알릴기와 내부고리화 반응이 진행될 것을 우려하여 alloc으로 보호하는 것을 피하였으나 실험 결과로는 문제가 없는 것으로 나타났다.

화합물 9에 있는 메틸에스테르기를 가수분해하여 카르복실산으로 바꾸고 이를 다시 allyl bromide를 이용하여 알릴에스테르기를 도입하여 최종 카바페넴의 합성시 보호기를 제거할 때 같이 제거하기 위해 화합물 11을 합성하였다. 또한 화합물 11에 메틸에스테르기를 알콜로 환원하고 환원된 알콜기에 mesyl기를 도입하였다. 도입된 mesyl기를 다시 아지드기로 치환하여 화합물 14를 합성하였다.



Reagent and reaction conditions (a) i) NCS, DMF, rt-60°C, 30min ii) methylpropiolate, TEA, DMF, 0°C-rt, 2h (60.6%) (b) i) CH₂Cl₂/TFA=1/1, 0°C, 1h ii) allylchloroformate, TEA, CH₂Cl₂, rt, 2h (70%) (c) claisen alkali, MeOH, 0°C, 1h (98%) (d) allylbromide, TEA, DMF, 60°C, 30min (76%) (e) LiCl, NaBH₄, THF, EtOH; (f) MsCl, Et₃N, CH₂Cl₂; (g) NaN₃, CH₃CN

Scheme 2. 이소옥사졸릴피롤리딘의 합성

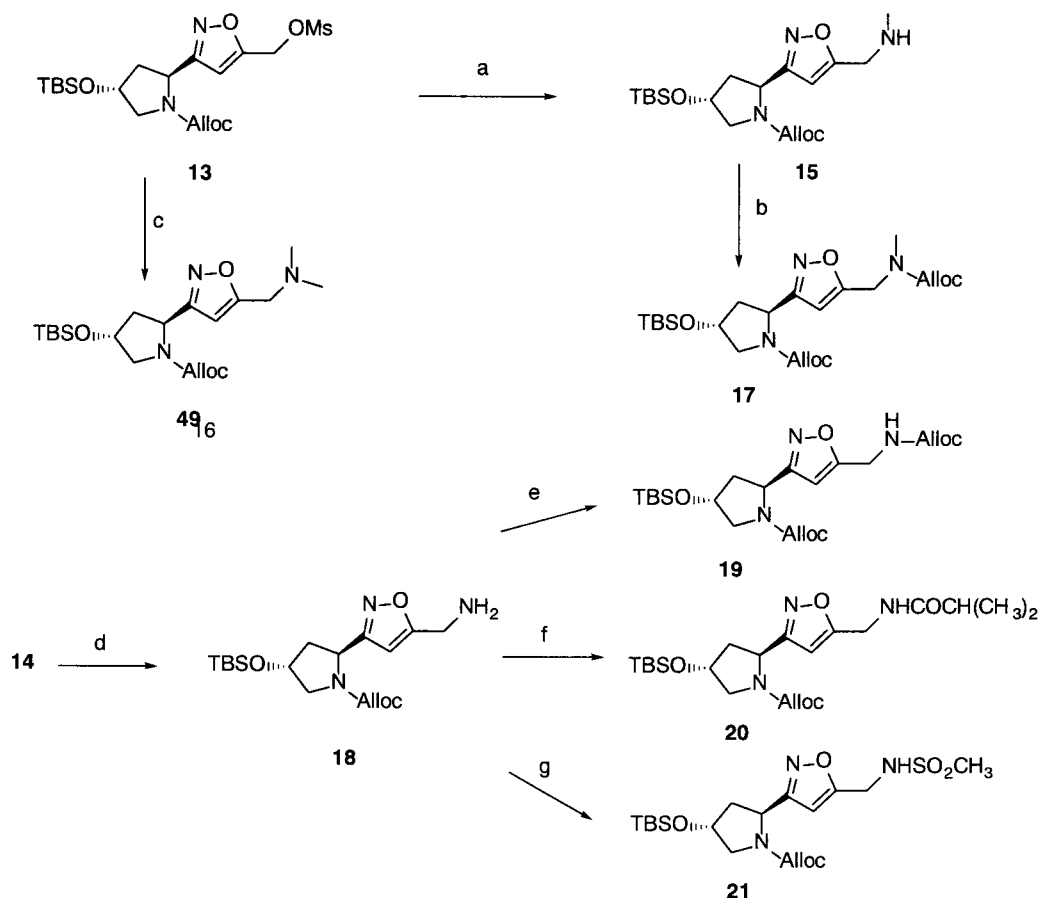
화합물 **7**을 DMF에 용해시킨 후 N-chlorosuccinimide를 가하고 30분간 상온에서 교반한 다음 60 °C에서 30분간 교반한다. 이를 2 °C로 낮추고methylpropiolate를 적가한 다음 DMF에 용해시킨 triethylamine을 30분간 서서히 떨어뜨린다. 상온에서 2시간 동안 교반하고 이 혼합용액을 물과 EtOAc로 추출하고 용매를 감압 농축한 후 column chromatography 법으로 정제하면 화합물 **8**을 얻는다. 이소옥사졸 화합물 **8**에 보호된 Boc을 제거하기 위해서 0 °C에서 CH₂Cl₂/TFA=1/1 용액에 1시간 동안 교반 후 용매를 감압 농축하여 제거한 다음 다시 무수 CH₂Cl₂에 용해시킨다. 0 °C에서 triethylamine을 적가하고 allyl chloroformate를 적가한 뒤 상온에서 2시간 교반한다. 반응이 종결되면 물과 CH₂Cl₂를 이용해 추출한 다음 용매를 감압 농축하여 화합물 **9**를 얻는다.

화합물 **9**를 MeOH에 용해하고 claisen alkali를 적가한 다음 0 °C에서 30분간 교반하면 메틸에스테르기가 가수분해 된다. 여기에 1N-HCl로 산성화하여 혼합 용

액을 감압 농축하고 물과 CH_2Cl_2 로 추출하여 용매를 감압 농축하면 화합물 **10**을 얻는다. 화합물 **10**에 카르복실산에 알릴기를 도입하기 위해 DMF에 용해시키고 triethylamine을 적가한다. 여기에 allyl bromide를 적가하고 60°C 에서 30분간 교반한다. 반응이 종결되면 물과 EtOAc로 추출하여 용매를 감압 농축한 다음 column chromatography 법으로 정제하여 화합물 **11**을 얻는다.

화합물 **9**를 질소기류하에서 무수 THF에 용해시키고 얼음 중탕하에서 lithium chloride anhydrous 와 sodium borohydride를 첨가시킨 후 EtOH를 서서히 떨어뜨린다. 실온으로 올려 약 8시간 동안 교반시킨 후 반응이 종결되면 불용성 물질을 여과하고 용매를 감압 증류하여 제거 후 citric acid를 가한 뒤 물과 EtOAc로 추출하여 용매를 감압 농축한 다음 column chromatography 법으로 정제하여 화합물 **12**를 얻는다. 화합물 **12**를 무수 CH_2Cl_2 에 용해하고 triethylamine과 methanesulfonylchloride를 적가한 다음 상온에서 2시간 동안 교반한 뒤 반응이 종결되면 물과 CH_2Cl_2 로 추출하여 용매를 감압 농축하여 제거하면 화합물 **13**을 얻는다. 화합물 **13**을 이용하여 mesyl기로 보호된 알콜에 일차아민과 2차아민을 도입하여 화합물 **15**, **16**을 합성하고, 화합물 **15**는 아민을 Alloc으로 보호하여 화합물 **17**을 합성하였다.

아지드로 치환되어있는 화합물 **14**를 환원시켜 일차 아민으로 화합물 **18**을 합성하고 이 화합물 **18**을 가지고 아민에 allyl chloroformate, isobutylryl chloride, methanesulfonyl chloride를 가지고 도입하여 화합물 **20**, **21**을 합성하였다.

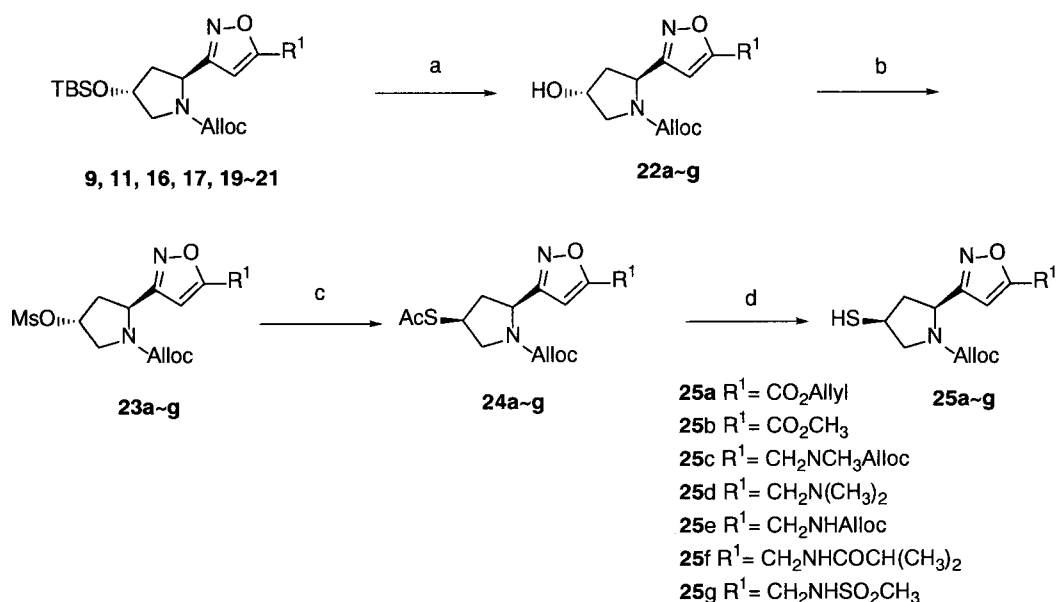


Reagent and reaction conditions (a) CH_3NH_2 , THF; (b) Alloc-Cl, Et_3N , CH_2Cl_2 ; (c) $(\text{CH}_3)_2\text{NH}$, THF; (d) Ph_3P , H_2O , THF; (e) Alloc-Cl, Et_3N , CH_2Cl_2 ; (f) $i\text{-PrCO-Cl}$, Et_3N , CH_2Cl_2 ; (g) MsCl, Et_3N , CH_2Cl_2 .

Scheme 3. 이소옥사졸릴피롤리딘유도체의 합성

화합물 9, 11, 16, 17, 19~21을 tetrabutylammonium fluoride를 이용하여 실릴기를 제거한 화합물 22a~g를 얻고 히드록시기를 좋은 이탈기인 mesyl기를 도입하고 이를 다시 $\text{S}_{\text{N}}2$ 반응을 이용하여 C-3' 위치에 반전 치환된 티오아세틸기를 도입하여 화합물 24a~g를 합성하였다. 화합물 24a에서 아세틸기를 선택적으로 가수분해하기 위하여 sodium thiomethoxide를 이용, 아세틸기만을 가수분해시킨다. 이는 알릴에스테르기도 같이 가수분해가 되기 때문에 이 조건으로는 실험을 하지 못하고 sodium thiomethoxide를 이용하여 화합물 25a를 합성하였다.

다른 화합물 24b~g는 기존에 방법인 NaOH를 이용하여 가수분해 하여 화합물 25b~g를 합성하였다.



Reagent and reaction conditions ; (a) Bu₄NF, THF, 0^oC, 1.5h (72%) (b) MsCl, TEA, CH₂Cl₂, rt, 2h (87%) (c) AcSK, CH₃CN, reflux, 8h (70%) (d) 1N-Na SMe, allyl alcohol, 0^oC, 30min for **58a** ; 1N-NaOH, MeOH, 0^oC, 30min for **58b-g**

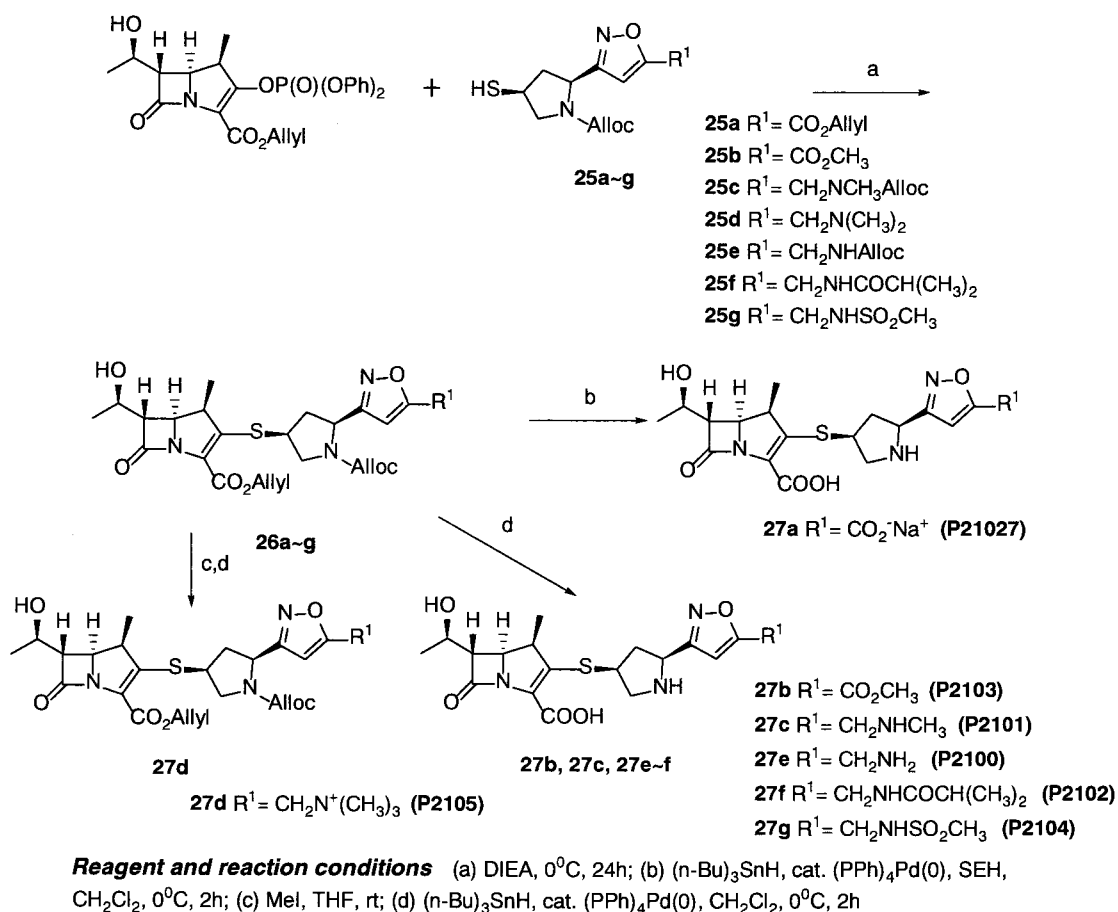
Scheme 4. 이소옥사졸릴피롤리딘티올의 합성

화합물 **9, 11, 16, 17, 19~21**을 무수 THF에 용해하고 TBAF (tetrabutylammonium fluoride)를 적가한다. 0^oC에서 1.5시간 동안 교반하고 반응이 종결되면 용매를 감압 농축하여 제거하고 물과 EtOAc로 추출하여 용매를 감압 농축한 다음 column chromatography 법으로 정제하여 화합물 **23**을 얻는다. 화합물 **22**의 히드록시기는 좋은 이탈기인 mesyl 기를 도입하여 티오아세틸기를 반전치환하게 될 전구체로 이용된다. 화합물 **22**를 무수 CH₂Cl₂에 용해하고 triethylamine과 methanesulfonylchloride를 적가한 다음 상온에서 2시간 동안 교반한 뒤 반응이 종결되면 물과 CH₂Cl₂로 추출하여 용매를 감압 농축하여 제거하면 화합물 **23**을 얻는다.

화합물 **23**을 무수 CH₃CN에 용해하고 potassiumthioacetate를 적가한 다음 8시간 동안 가열환류한다. 반응이 종결되면 용매를 감압 농축하여 제거한 뒤 물과 EtOAc로 추출하여 용매를 감압 농축한 다음 column chromatography 법으로 정제하면 피롤리딘의 C-3 위치에 반전 치환된 티오아세틸기가 도입된 화합물 **24**를 얻는다. 화합물 **24**를 allyl alcohol에 용해하고 1N-sodium thiomethoxide를 0^oC에서 적가하고 30분간 교반하여 반응이 종결 되면 1N-HCl로 pH=7로 맞추어 준다. 이 혼합용액을 감압 농축하여 물과 CH₂Cl₂로 추출한 후 용매를 감압 농축하여 티올 화합물 **25**를 얻는다.

2. 이소옥사졸릴계 피롤리딘 1β-메틸카바페넴의 합성

카바페넴 엔올포스페이트화합물과 화합물 25a~g의 커플링 과정을 통한 다음, 보호기였던 alloc의 제거 반응을 통해 최종 카바페넴을 합성하게 된다.



Scheme 5. 이소옥사졸릴피롤리딘 1β-메틸카바페넴 27a~g의 합성

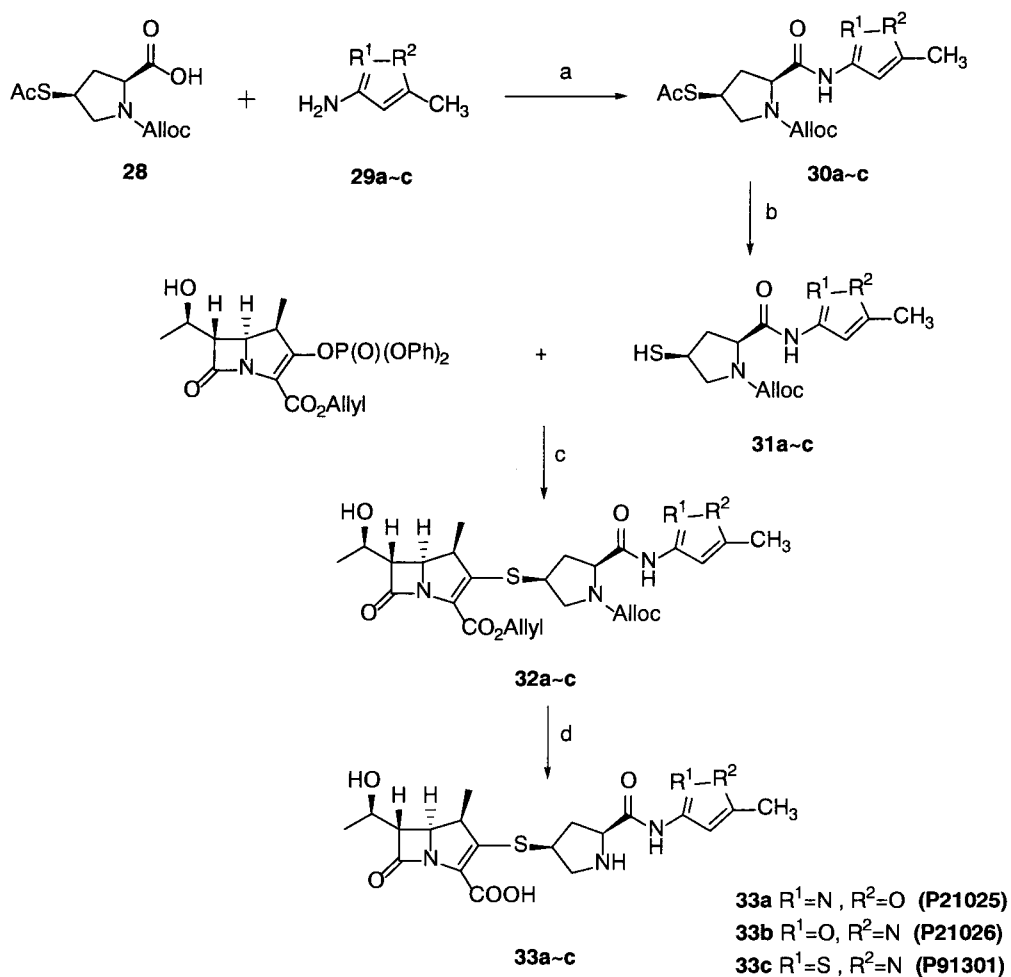
카바페넴 엔올포스페이트와 화합물 25a~g을 기존에 커플링 방법으로 하여 화합물 27a~g을 합성하였다.

화합물 26a를 무수 CH₂Cl₂에 용해하고 질소대기하에서 tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0)을 촉매량 가한다. 그리고 trybutyltinhydride를 가하고 0 °C에서 2시간 동안 교반한다. 반응이 종결되면 카르복실신에 염 형태를 만들기 위해 유기층에도 잘 용해하는 2-ethylhexanoicacid sodium salt를 가하고 30분간 교반한다. 이를 증류수를 이용해 추출한 다음 물층을 동결 건조하여 층진채를 HP-20 Dianion으로 하고 전개 용매를 5%의 THF 수용액으로 하여 column chromato-

graphy법으로 정제하고 동결 건조하여 최종 카바페넴인 **27a**를 얻었다.

화합물 **26b~g**는 무수 CH_2Cl_2 에 용해하고 질소대기하에서 tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0)을 촉매량 가한다. 그리고 trybutyltinhydride를 가하고 $0\text{ }^\circ\text{C}$ 에서 교반한 후 상기 정제 방법으로 하여 **27b~g**를 얻었다.

3. 티오아세틸 이소옥사졸로카바모일 피롤리딘의 합성



Reagent and reaction conditions (a) isobutylchloroformate, NMM, THF, 0°C-rt, 5h (b) 2N-NaOH, MeOH, 0°C, 30min (c) i) EtOAc/n-hexane=3/1, cat. Rh₂(OAc)₄, 60°C, 1h ii) ClOPO(OPh)₂, DIEA, 0°C, 24h (d) (n-Bu)₃SnH, cat. (PPh)₄Pd(0), CH₂Cl₂, 0°C, 2h

Scheme 6. 카바모일 이소옥사졸, 이소티아졸 1β-메틸카바페넴 **33a~c**의 합성

Scheme 6의 a를 반응 조건으로 삼아 화합물 **28**을 무수 THF에 용해시킨 후 0°C에서 N-methylmorpholine과 isobutylchloroformate를 적가하고 여기에 무수 THF에 용해시킨 3-amino-5-methylisoxazole을 적가한 뒤 상온으로 온도를 올려 12시간 동안 교반한다. 반응을 종결하여 용매를 감압농축하여 제거한 후 EtOAc로 추출하여 용매를 감압 농축한 다음 column chromatography법으로 정제하여 화합물 **30a**를 얻는다.

화합물 **30b**, **30c**는 상기 화합물 **30a**의 동일한 방법으로 합성하였다. 그리고 카바페넴의 모핵과 커플링의 과정은 일반적인 방법으로 진행하여 최종 카바페넴인 **33a~c**를 합성한다.

본 연구에서 합성한 **27a**는 그람 양성균에서는 메로페넴이나 이미페넴에서 저조한 활성을 나타내나 그람 음성균에서는 메로페넴과 동등한 활성을 이미페넴보다는 월등한 활성을 나타내었다. 그러나 녹농균에서는 이미페넴이나 메로페넴보다 아주 저조한 활성을 나타냈다. 또한 DHP-1도 이미페넴 보다 월등하나 메로페넴 보다 저조한 안정성을 나타내었다. **27b**는 그람 양성균에서는 메로페넴보다 동등하거나 보다 우수한 항균력을 나타내었고 녹농균에서는 저조한 항균력을 나타내나 그것을 제외한 그람 음성균에서는 동등한 항균력을 가지는 것으로 확인되었다. **27b**의 DHP-1은 **27a**와 비슷한 안정도를 나타내었다.

33a와 **33b**의 항균력은 모든 수치에서 거의 비슷하나 **33a**가 약간 더 좋은 활성을 보여주었고 그람 양성균에서는 메로페넴과 동등한 항균력을, 녹농균을 포함한 그람 음성균에서는 저조한 항균력을 나타내었다. DHP-1도 이미페넴과 메로페넴의 중간 정도로 저조한 안정도를 보여 주고 있다.

이소옥사졸계카바페넴과 상호관계를 비교하기 위해 합성한 **33c**는 **33a**와 **33b**보다 모두 우수한 항균력을 나타내었고, 메로페넴이나 이미페넴에 비해 그람 양성균과 그람 음성균 모두에서 동등 또는 저조한 활성을 나타내고 있다. 하지만 DHP-1에서는 메로페넴보다 우수하고 이미페넴 보다 월등히 안정한 것으로 나타났다.

표 3. 27a~g의 표준균주에 대한 MIC data

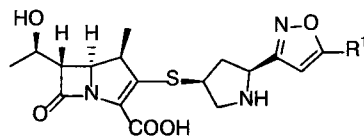
Strains	minimum inhibitory conc.($\mu\text{g/ml}$)							
	27b	27c	27d	27e	27f	27g	Imipenem	Meropenem
<i>S. pyogenes</i> 308A	0.004	0.025	0.025	0.007	0.049	0.004	0.004	0.013
<i>S. pyogenes</i> 77A	0.004	0.025	0.025	0.007	0.049	0.004	<0.002	<0.002
<i>S. faecium</i> MD 8b	6.250	3.125	12.500	3.125	6.250	3.125	1.563	6.250
* <i>S. aureus</i> SC511	0.195	0.049	0.195	0.049	0.098	0.098	0.013	0.098
* <i>S. aureus</i> 285	0.195	0.098	0.391	0.098	0.195	0.195	0.013	0.195
* <i>S. aureus</i> 503	0.195	0.025	0.098	0.049	0.098	0.098	0.007	0.098
<i>E. coli</i> 078	0.007	0.049	0.195	0.025	0.025	0.013	0.098	0.013
<i>E. coli</i> DC 0	0.013	0.049	0.195	0.049	0.049	0.025	0.195	0.025
<i>E. coli</i> DC 2	0.013	0.049	0.391	0.025	0.025	0.025	0.195	0.025
<i>E. coli</i> TEM	0.013	0.049	0.195	0.025	0.025	0.013	0.195	0.025
<i>E. coli</i> 1507E	0.013	0.049	0.195	0.025	0.049	0.013	0.098	0.025
<i>P. aeruginosa</i> 9027	1.563	1.563	3.125	0.781	12.500	3.125	0.391	0.195
<i>P. aeruginosa</i> 1592E	1.563	1.563	3.125	0.781	6.250	3.125	0.781	0.195
<i>P. aeruginosa</i> 1771	3.125	3.125	6.250	1.563	12.500	6.250	0.781	0.195
<i>P. aeruginosa</i> 1771M	1.563	0.391	1.563	0.391	0.781	0.391	0.195	0.049
** <i>S. typhimurium</i>	0.013	0.098	0.391	0.049	0.049	0.025	0.781	0.025
<i>K. cxytoca</i> 1082E	0.098	0.098	0.781	0.098	0.098	0.049	0.195	0.049
<i>K. aerogenes</i> 1522E	0.025	0.098	0.391	0.049	0.049	0.025	0.195	0.049
<i>E. cloacae</i> P99	0.098	0.098	0.195	0.049	0.195	0.098	0.049	0.025
<i>E. cloacae</i> 1321E	0.013	0.025	0.098	0.025	0.025	0.025	0.098	0.025
DHP-1 Susceptibility ⁴	0.79	0.92	1.37	0.93	1.07	0.91	0.18	1.00

1) *S.*: streptococcus, **S.*: Staphylococcus, *E.*: Escherichia, *P.*: Pseudomonas,
***S.*: Salmonella, *K.*: Klebsiella, **E.*: Enteroabacter

2) Imipenem

3) Meropenem

4) Relative $t_{1/2}$ of hydrolysis to Meropenem by partially purified porcine renal DHP-1



27a-g

27a $R^1 = \text{CO}_2^- \text{Na}^+$ (P21027)

27b $R^1 = \text{CO}_2\text{CH}_3$ (P2103)

27c $R^1 = \text{CH}_2\text{NHCH}_3$ (P2101)

27d $R^1 = \text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ (P2105)

27e $R^1 = \text{CH}_2\text{NH}_2$ (P2100)

27f $R^1 = \text{CH}_2\text{NHCOCH}(\text{CH}_3)_2$ (P2102)

27g $R^1 = \text{CH}_2\text{NHSO}_2\text{CH}_3$ (P2104)

표 4. 33a~c의 표준균주에 대한 MIC data

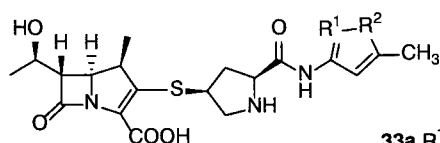
Strains	minimum inhibitory conc.($\mu\text{g/ml}$)				
	33a	33b	33c	Imipenem	Meropenem
<i>S. pyogenes</i> 308A	0.025	0.025	0.007	0.004	0.013
<i>S. pyogenes</i> 77A	0.013	0.013	<0.002	<0.002	<0.002
<i>S. faecium</i> MD 8b	3.125	3.125	3.125	1.563	6.250
* <i>S. aureus</i> SG511	0.195	0.195	0.025	0.013	0.098
* <i>S. aureus</i> 285	0.195	0.195	0.025	0.013	0.195
* <i>S. aureus</i> 503	0.098	0.195	0.013	0.007	0.098
<i>E. coli</i> 078	0.025	0.049	0.049	0.098	0.013
<i>E. coli</i> DC 0	0.049	0.049	0.049	0.195	0.025
<i>E. coli</i> DC 2	0.025	0.025	0.049	0.195	0.025
<i>E. coli</i> TEM	0.025	0.049	0.049	0.195	0.025
<i>E. coli</i> 1507E	0.049	0.049	0.025	0.098	0.025
<i>P. aeruginosa</i> 9027	25.000	25.000	0.781	0.391	0.195
<i>P. aeruginosa</i> 1592E	12.500	12.500	0.781	0.781	0.195
<i>P. aeruginosa</i> 1771	25.000	25.000	0.781	0.781	0.195
<i>P. aeruginosa</i> 1771M	0.781	1.563	0.195	0.195	0.049
** <i>S. typhimurium</i>	0.049	0.049	0.049	0.781	0.025
<i>K. cxytoca</i> 1082E	0.098	0.098	0.098	0.195	0.049
<i>K. aerogenes</i> 1522E	0.049	0.049	0.049	0.195	0.049
<i>E. cloacae</i> P99	0.195	0.391	0.049	0.049	0.025
<i>E. cloacae</i> 1321E	0.025	0.049	0.025	0.098	0.025
DHP-1 Susceptibility ⁴	0.45	0.38	1.76	0.18	1.00

1) *S.*: streptococcus, **S.*: Staphylococcus, *E.*: Escherichia, *P.*: Pseudomonas,
 ***S.*: Salmonella, *K.*: Klebsiella, **E.*: Enteroabacter

2) Imipenem

3) Meropenem

4) Relative $t_{1/2}$ of hydrolysis to Meropenem by partially purified porcine renal DHP-1



33a-c

33a $R^1=N$, $R^2=O$ (P21025)

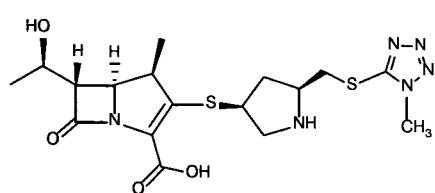
33b $R^1=O$, $R^2=N$ (P21026)

33c $R^1=S$, $R^2=N$ (P91301)

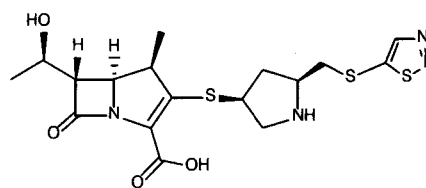
4. 피리미딘티오메틸피롤리딘티오 1β-메틸카바페넴에 관한 연구

본 연구의 목적은 메로페넴의 기본 골격을 유지하면서 피롤리딘의 C-5' 위치에 헤테로 고리와 티오에테르를 포함하며 헤테로 고리로 염기성이 강한 피리미딘을 도입하여 염기성 작용기와 약효간의 상관관계를 알아보는 것이다.

최근에 카바페넴의 발전경향에 따라 메로페넴의 기본 골격을 유지하며 피롤리딘의 C-5' 위치에 있는 dimethylaminocarbonyl 기 대신에 티오에테르기를 포함한 방향성 헤테로고리가 연결된 새로운 1β-메틸카바페넴 화합물들에 대한 합성 및 생물학적 특성에 관한 연구가 보고된 바 있다. 그 결과 염기성 작용기로 방향성 헤테로 고리 화합물인 테트라졸과 티아디아졸등을 도입한 화합물이 그람양성균과 녹농균을 포함한 그람음성균에 대해 모두 좋은 활성을 나타내었고 그 염기성 헤테로 고리에 도입되어 있는 작용기에 따라 그 활성이 변화하는 결과를 보였다. 또한 5원환인 테트라졸과 티아디아졸 뿐만 아니라 6원환인 피리딘과 피리미딘을 도입하였을 때도 우수환 활성을 나타내었다.



tetrazole substituted 1β-methylcabapenem derivative

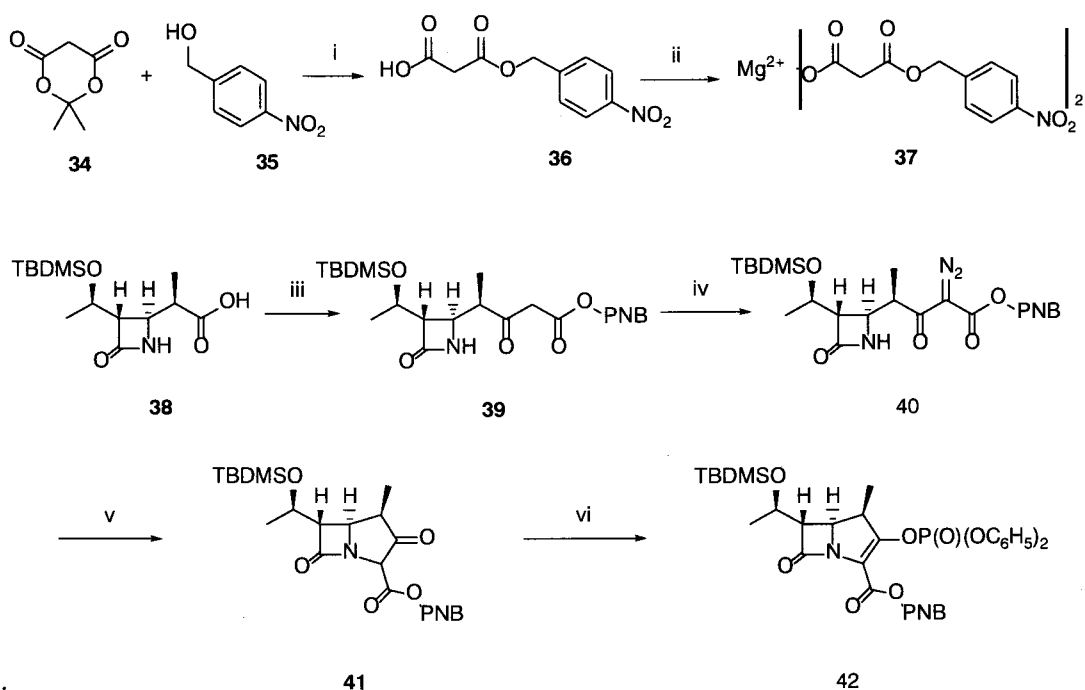


thiaziazole substituted 1β-methylcabapenem derivative

그림 6. 테트라졸과 티아디아졸로 치환된 카바페넴 유도체의 구조

이러한 결과들을 미루어 본 연구에서는 보다 염기성이 강한 6원환인 피리미딘에 결가지를 메틸기, 히드록시기, 아민기 등을 도입하여 생물학적 활성 및 DHP-1에 대한 안정성을 검사하여 그 구조와 활성의 상관관계에 대해 알아보고자 하였다.

카바페넴의 모핵의 합성은 여러 가지 방법이 보고되어 있으나 본 연구에서는 (3S,4S)-3-[(R)-1-(t-butyl dimethylsilyoxy)ethyl]-4-[(R)-1-carboxyethyl]-2-azetidinone(BMA, **38**)으로부터 베타케토에스테르 **39**를 합성하고 이를 토실 아지드와 반응하여 디아조 화합물 **40**을 합성한후, 로듐 촉매하에 고리화하는 Merck사의 방법을 이용하였다. 고리화된 화합물 **41**은 diphenylphosphoryl chloride와 반응하면 보호된 카바페넴엔올포스페이트 **42**가 생성되며 이는 1-β-메틸카바페넴 합성에 가장 중요한 중간체로 사용된다.



Reagents and reaction conditions: (i) CH_3CN , reflux, 24 h; (ii) $\text{Mg}(\text{OEt})_2$, THF, 0°C , 3 h; (iii) CDI, **15**, CH_3CN , rt ~ 60°C , 3 h; (iv) $\text{CH}_3\text{PhSO}_2\text{N}_3$, TEA, CH_3CN , rt, 3 h; (v) $\text{Rh}(\text{OAc})_2$, EtOAc, n-Hexane, reflux, 2 h; (vi) $\text{ClPO}(\text{OPh})_2$, DIEA, 0°C , 5 h

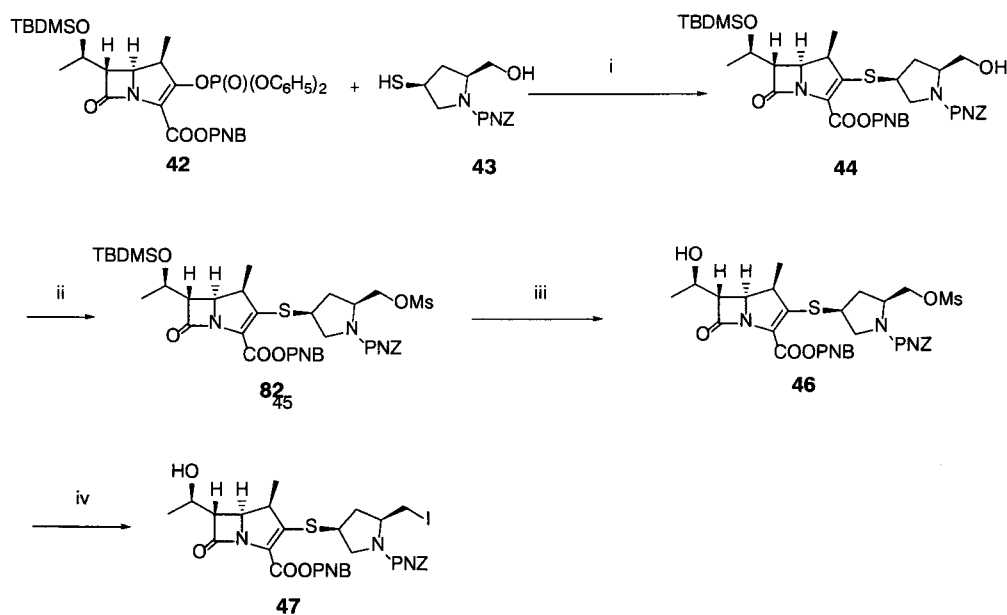
Scheme 7. 카바페넴 엔올포스페이트 **42**의 합성

BMA의 측쇄에 베타케토에스테르를 도입하기 위한 시약으로 사용하기 위하여 meldrum's acid(**34**)를 출발물로 하여 말로산의 한쪽만 *p*-nitrobenzyl (PNB)기로 보호된 마그네슘염 **37**을 합성하였다. PNB는 차후에 카바페넴의 C-2 위치에 도입될 피롤리딘의 아미노기의 보호기로 사용할 *p*-nitrobenzyloxy carbonyl (PNZ)과 동시에 제거하기 위하여 선택한 것이다.

Meldrum's acid와 *p*-nitrobenzyl alcohol을 아세토니트릴에 용해시키고 혼합물을 24시간 동안 환류교반 하였다. 이를 감압 농축하고 potassium hydrogen carbonate 10% 수용액으로 용해 시켰다. 이를 염화 메틸렌으로 추출하여 합성에 참가하지 않은 과량의 시약들은 유기층에 용해시켜 제거한다. pH 2로 산성화하여 수용층을 free acid 형태로 변환하고 아세트산 에틸로 추출하여 화합물 **36**을 얻었다. BMA **38**을 아세토니트릴에 용해하고 1,1-carbonyldiimidazol (CDI)를 가하여 상온에서 1시간 정도 교반 하여 카르복시기를 활성화 시키고 여기에 마그네슘 염 화합물 **37**을 첨가하고 60°C 로 온도를 조절하면서 약 18시간 동안 교반하여 생성된 고체를 여과하여 제거하고 여액을 감압, 농축한 후 아세트산에틸과 물로서 추출하여 베타케토에스테르 화합물 **39**를 얻었다.

화합물 **39**를 토실아지드와 반응하여 디아조화합물을 합성하였다. 이는 다음 반응에서 디아조가 질소가스로 제거되면서 고리화 반응을 일으켜 카바페넴 모핵을 합성하기 위한 것이다. 베타케토에스테르 화합물 **39**를 아세트니트릴에 용해하고 토실아지드를 첨가하여 30분정도 교반한 뒤 0 °C로 온도를 조절하고 triethylamine (TEA)을 천천히 적가하여 3시간 정도 교반하였다. 이를 감압 농축하여 용매를 제거한 후 아세트산 에틸로 희석하고 물로서 세척한 후 유기용매층을 무수 황산 나트륨으로써 건조시켰다. 여과하여 그 여액의 용매를 감압 증류하여 제거한 후 column chromatography법으로 정제하여 디아조 화합물 **40**을 얻었다. 디아조 화합물 **40**을 헥산/아세트산에틸=1/4 용액에 용해하고 로뎀 촉매하에 환류 교반하여 고리화된 화합물 **41**을 합성하였다. 화합물 **41**은 매우 불안정하여 촉매로 사용한 로뎀을 여과하여 제거하는 것 이외의 별도의 정제과정을 거치지 않고 바로 다음 반응에 이용하였다.

화합물 **41**이 아세트니트릴에 용해되어있는 상태에서 온도를 0 °C로 조절한 뒤 diphenylphosphoryl chloride를 가한 후 *N,N*-diisopropylethylamine (DIEA)을 천천히 적가하였다. 동일한 온도에서 5시간 동안 교반하고 감압 농축하여 용매를 제거하고 column chromatography법으로 정제하여 엔올포스페이트 화합물 **42**를 얻었다 (Scheme 7).



Reagents and reaction conditions: (i) DIEA, CH₃CN, rt, 3h; (ii) MsCl, TEA, CH₂Cl₂, 0°C, 3h; (iii) NH₄F·HF, DMF, N-methylpyrrolidone, rt, 2d; (iv) KI, DMF, rt, 24h

Scheme 8. 피롤리딘 1β-메틸카바페넴 **47**의 합성

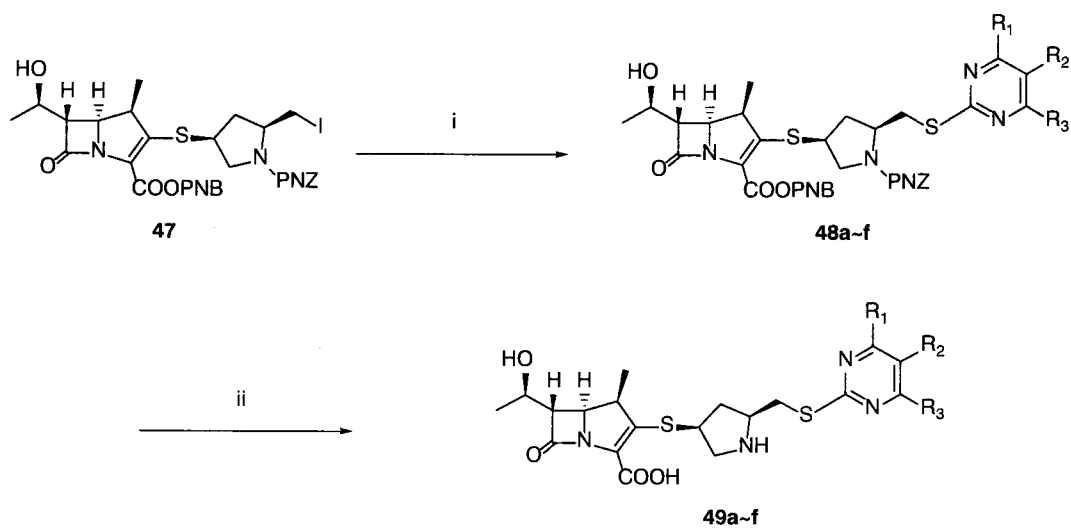
피롤리딘 중간체 **43**과 카바페넴엔올포스페이트 **42**를 축합하여 피롤리딘티오카바페넴 중간체 **47**을 합성하였다. 카바페넴엔올포스페이트 **42**를 아세트니트릴에 용해시킨 상태에서 온도를 0 °C로 조절하고 DIEA를 천천히 적가하여 30분간 교반한 뒤 피롤리딘티올 **43**을 아세트니트릴에 용해시켜 천천히 적가하였다. 이 온도에서 1시간 정도 교반하고 상온으로 온도를 조절하여 1시간 동안 교반하였다. 이를 감압 증류하여 용매를 제거하고 아세트산에틸로 희석한 뒤 물로서 세척하였다. 유기용매층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고 감압 농축하여 용매를 제거한 뒤 column chromatography법으로 정제하여 화합물 **44**를 얻었다.

화합물 **44**와 MsCl을 TEA하에 반응시켜 히드록시기를 이탈기인 mesylate로 변환하여 화합물 **45**를 합성하였다. 화합물 **45**의 카바페넴의 C-6의 히드록시기의 보호기인 TBDMS기를 ammonium hydrogenedifloride로서 제거하였다. 화합물 **45**를 dimethylformamide (DMF)와 *N*-methylpyrrolidone의 조성비가 2.7:1 인 용매에 용해 시키고 ammonium hydrogenedifloride를 가한후 상온에서 2일동안 교반하였다. 이를 얼음물로 희석하고 아세트산 에틸로 추출하여 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고 여과한 후 여액의 용매를 감압 증류하여 제거하고 column chromatography법으로 정제하여 화합물 **46**을 얻었다.

화합물 **46**과 요오드화 칼륨을 반응하여 mesylate를 요오드기로 치환하여요오드메틸 화합물 **47**을 합성하였다. 화합물 **47**은 본 연구에서 합성하는 피리미딘계 카바페넴의 핵심 중간체로 이용된다 (Scheme 8).

피리미딘계 1-베타메틸 카바페넴의 최종적인 합성을 위해 곁가지를 가진 피리미딘티올들은 공업적으로 생산되는 것들을 이용하였다.

피리미딘티올 (**a~f**)을 상온에서 DMF에 용해시킨 뒤 potassium carbonate를 가하고 이 온도에서 30분간 교반하여 티올을 potassium 염의 형태로 변환시켰다. 여기에 앞서 합성한 화합물 **47**을 DMF에 용해하여 천천히 적가한 뒤 상온에서 2시간 정도 교반하였다. 물과 아세트산에틸로 추출한 뒤 유기층을 무수황산나트륨으로 건조시키고 여과한 후 그 여액의 용매를 감압증류하여 제거하고 column chromatography법으로 정제하여 보호된 카바페넴 화합물 **48a~f**를 얻었다.



a, P11120	b, P11121	c, P11122	d, P11123	e, P11124	f, P11125

Reagents and reaction conditions: (i) K_2CO_3 , 21a-f, DMF, rt, 2 h; (ii) Pb/C, H_2 , rt, 2 h

Scheme 9. 피리미딘계 1 β -메틸카바페넴 49a~f의 합성

화합물 48a~f를 THF에 용해 시키고 palladium on activated carbon (Pd/C)을 가한 후 수소가스의 압력이 50~55psi이 되도록 유지하면서 상온에서 2시간 정도 반응하여 PNZ와 PNB보호기를 동시에 제거하였다. 여과하여 Pd/C를 제거하고 동결 건조 시킨다음 충전재를 HP-20 Dianion으로 하고 전개 용매를 3~5%의 THF 수용액으로 하여 column chromatography법으로 정제하였다. 이를 다시 동결 건조하여 화합물 49a~f를 얻었다 (Scheme 9).

본 연구에서 합성한 새로운 카바페넴 **49a~f**에 대해 표준균주에 대한 1차 *in vitro* 항균활성실험을 agar dilution method를 이용하여 MIC (Minimal Inhibitory Concentration)값을 산출하였다. 또한 돼지의 신장에서 추출한 DHP-1에 대한 감수성 시험을 행하였다. 대조군으로는 이미페넴과 메로페넴 및 기존에 합성하여 좋은 활성을 나타냈던 테트라졸 유도체와 티아디아졸 유도체를 가진 1 β -메틸 카바페넴을 이용하였다.

표 5는 본 연구에서 합성한 피리미딘계 1- β -메틸 카바페넴의 표준균주에 대한 MIC 및 DHP-1 안정도를 나타낸 것이다. 본 연구에서 합성한 피리미딘계 1 β -메틸 카바페넴은 피리미딘에 trifluoromethyl기가 치환된 **49a**를 제외하고 모두 녹농균을 포함한 그람음성균 및 그람양성균에 광범위한 활성을 나타내었다. 또한 아미노기가 치환된 피리미딘을 도입한 **49b~d, 49f**의 경우가 그렇지 않은 **49a, 49e**의 경우보다 전반적으로 우수한 활성을 나타내었다. 그 중에서도 **49f**가 녹농균을 포함해서 가장 균형있는 스펙트럼을 나타내었으며 그람양성균에 대해서는 이미페넴보다는 저조하나 메로페넴과 동등한 항균력을 나타내었으며 그람음성균에 대해서는 이미페넴에 동등하거나 보다 우수한 항균력을 나타내었다. 또한 **49f**는 녹농균에 대해서 티아디아졸의 경우보다 우수하며 테트라졸의 경우와 동등한 활성을 나타내었다. 따라서 **49f**는 보다 다양한 임상 내성균에 대한 항균시험등 보다 진전된 연구가 필요한 화합물이라 판단된다. 그러나 **49f**를 제외한 피리미딘계 카바페넴은 티아디아졸이나 테트라졸계 카바페넴에 비해 전체적으로 저조한 활성을 나타내고 있다.

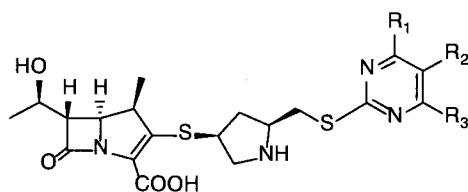
DHP-1에 대해서는 모두 메로페넴과 동등하거나 그 이상의 우수한 안정성을 나타내었으며 이미페넴에 대해서는 5배 이상 월등히 안정함을 알수 있다.

표 5. 피리미딘계 β -메틸카바페넴 49a~f의 *in vitro* 효능 및 DHP-1 안정도

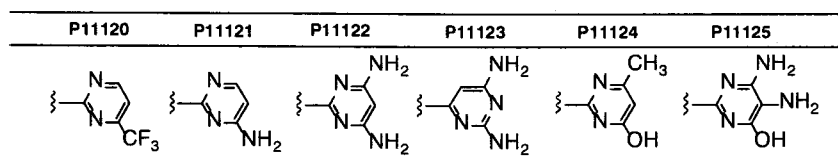
Strains	minimum inhibitory conc.(ug/ml)									
	49a	49b	49c	49d	49e	49f	tetrazole	thiazole	IPM ¹⁾	MPM ²⁾
<i>S. pyogenes</i> 308A	0.007	0.004	0.004	0.004	0.049	0.013	0.004	0.007	0.004	0.007
<i>S. pyogenes</i> 77A	0.004	<0.002	<0.002	<0.002	0.025	0.004	<0.002	0.004	<0.002	0.007
<i>S. faecium</i> MD 8b	6.250	6.250	3.125	1.563	12.50	6.250	6.250	3.125	0.781	12.500
<i>S. aureus</i> SG511	0.049	0.025	0.025	0.025	0.391	0.049	0.025	0.025	0.013	0.098
<i>S. aureus</i> 285	0.098	0.049	0.049	0.049	0.781	0.098	0.049	0.049	0.013	0.195
<i>S. aureus</i> 503	0.049	0.025	0.025	0.025	0.391	0.049	0.025	0.013	0.007	0.098
<i>E. coli</i> 078	0.098	0.049	0.049	0.049	0.391	0.098	0.025	0.013	0.098	0.025
<i>E. coli</i> DC 0	0.781	0.098	0.049	0.098	0.781	0.098	0.025	0.013	0.195	0.025
<i>E. coli</i> DC 2	0.049	0.049	0.049	0.049	0.391	0.098	0.025	0.025	0.195	0.025
<i>E. coli</i> TEM	0.391	0.049	0.049	0.049	0.391	0.098	0.025	0.013	0.098	0.025
<i>E. coli</i> 1507E	0.781	0.049	0.049	0.098	0.391	0.098	0.025	0.013	0.098	0.025
<i>P. aeruginosa</i> 9027	100	3.125	6.250	3.125	6.250	0.781	0.781	1.563	0.391	0.195
<i>P. aeruginosa</i> 1592E	100	3.125	6.250	3.125	12.50	0.781	0.781	3.125	0.781	0.098
<i>P. aeruginosa</i> 1771	100	3.125	6.250	3.125	12.50	1.563	0.781	3.125	0.781	0.391
<i>P. aeruginosa</i> 1771M	12.50	0.781	0.781	1.563	3.125	0.391	0.195	0.195	0.195	0.098
<i>S. typhimurium</i>	0.195	0.098	0.098	0.098	0.781	0.195	0.025	0.025	0.781	0.049
<i>K. cxytoca</i> 1082E	0.391	0.098	0.098	0.195	1.563	0.195	0.049	0.025	0.195	0.049
<i>K. aerogenes</i> 1522E	0.781	0.098	0.098	0.098	0.781	0.195	0.025	0.025	0.195	0.049
<i>E. cloacae</i> P99	1.563	0.098	0.098	0.195	1.563	0.195	0.025	0.049	0.098	0.049
<i>E. cloacae</i> 1321E	0.391	0.049	0.049	0.098	0.781	0.098	0.025	0.013	0.098	0.025
DHP-1 Susceptibility ³⁾	0.81	0.098	0.87	1.18	1.90	1.30	0.88	1.67	0.18	1.00

1) IPM: imipenem 2) MPM: meropenem

3) Relative $t_{1/2}$ of hydrolysis to Meropenem by partially purified porcine renal DHP-1



86a~f



5. 이소옥사졸로에텐릴피롤리딘티오 카바페넴 연구

본 연구에서는 앞서 연구한 이소옥사졸로피롤리딘티오 카바페넴의 그람 양성균에 대한 효능을 보다 증대하기 위하여 이소옥사졸과 피롤리딘 고리 사이에 스페이서로 에텐닐을 도입하여 lipophilicity를 증가시킨 이소옥사졸로에텐닐피롤리딘티오 카바페넴 **65**를 합성하여 이에 대한 구조-활성 상관관계를 연구하고자 하였다.

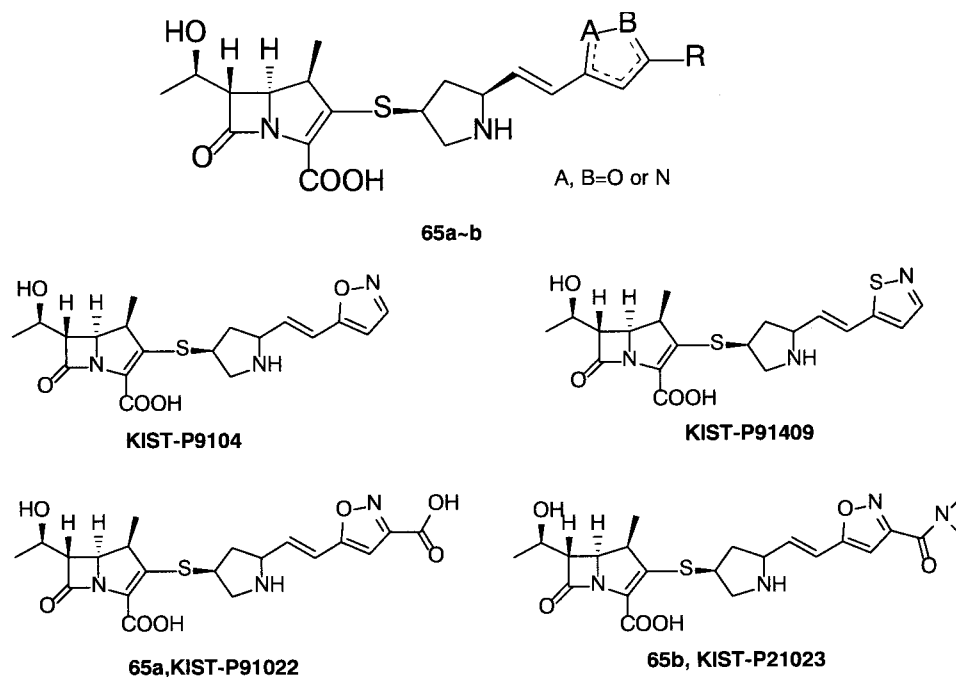
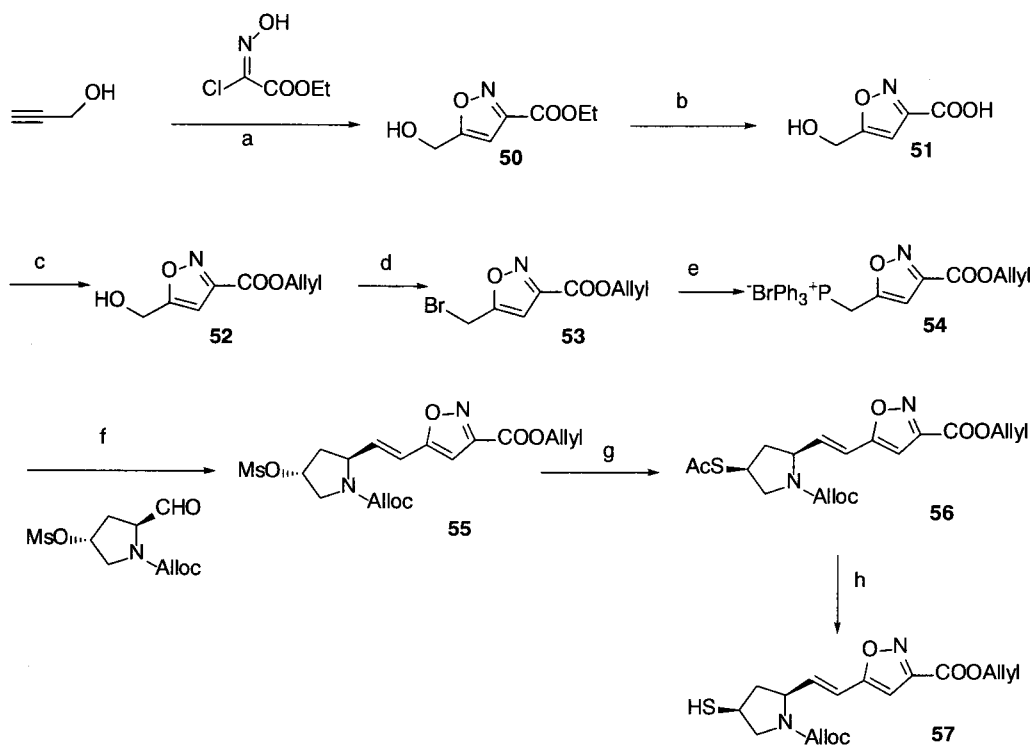


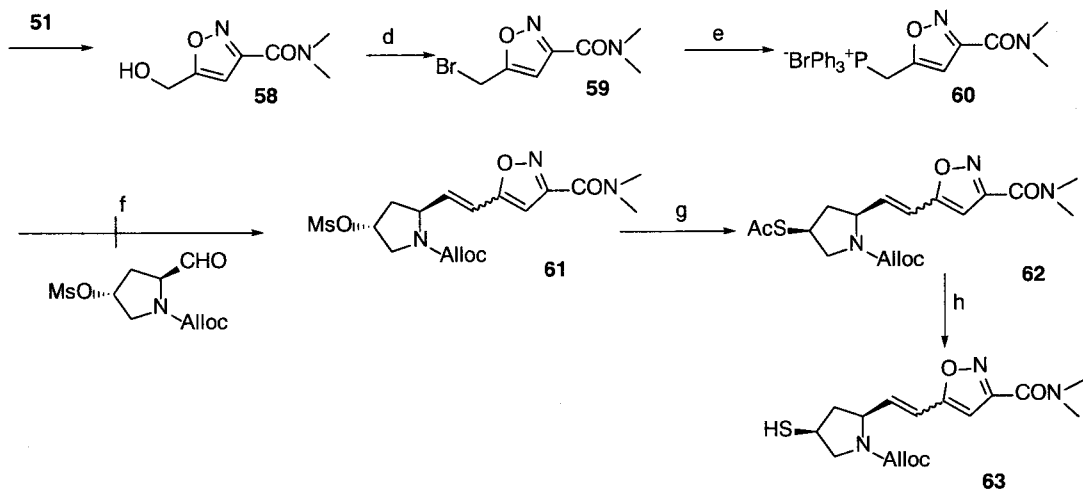
그림 7. Isoxazoloethenylpyrrolidinethio carbapenems

에텐닐피롤리딘티오을 합성하는 것이 핵심이다. 본 연구에서는 피롤리딘의 C2 위치를 알데히드로 변환하고 이소옥사졸의 C3 또는 C5 위치를 phosphonium ylide를 변환하여 Wittig 반응을 통해 올레핀을 합성하고자 하였다. 이소옥사졸 유도체는 일부 구매가 가능한 것을 제외하고는 대부분 nitrile oxide와 알킨 화합물의 1,3-dipolar cycloaddition 반응을 이용하여 합성하였다. 이소옥사졸의 C3가 치환되고 C5 위치에 올레핀이 도입된 화합물을 합성하기 위해서 methyl chlorooximidoacetate를 트리에틸아민으로 처리하여 생성되는 nitrile oxide를 in situ로 propargyl alcohol 과 반응하여 이소옥사졸의 C5 위치가 히드록시메틸로 C3가 메틸에스테르로 치환된 화합물 **50**을 합성하였다. 화합물 **50**을 claisen base하에서 산으로 만들고 acid에 알릴화하여 화합물 **52**를 얻었다. 통상적인 방법으로 히드록시기를 브롬화하고 이를 트

리페닐포스핀과 반응하면 트리페닐포스포늄브로미드 화합물 54와 화합물 60이 생성되며 이는 Wittig 반응시 적당한 염기로 처리하면 phosphonium ylide로 변환된다. 이와 같이 화합물 54와 60을 피롤리딘알데히드를 Wittig 반응하여 올레핀 55와 61을 합성하였다. 화합물 55, 61은 E, Z의 혼합물로 생성되었으며 이들은 크로마토그래피로 분리하여 E 형태만 반응하였다. Mesylate를 통상적인 방법으로 티올기로 반전, 치환하면 목적하는 티올 화합물 57, 화합물 63이 합성된다.



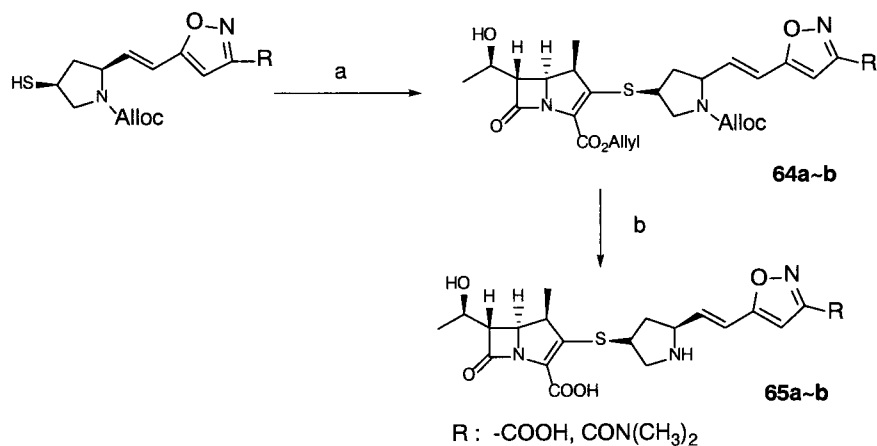
(a) TEA, Et₂O, (b) MeOH, Claisenbase, (c) Allylbromide, K₂CO₃, DMF, (d) PPh₃, CBr₄, CH₂Cl₂, (e) PPh₃, CH₃CN, (f) NaHMDS, THF, (g) AcSK, DMF, (h) 1N-NaOH, Allylalcohol



(a) TEA, Et₂O, (b) MeOH, Claisenbase, (c) Allylbromide, K₂CO₃, DMF, (d) PPh₃, CBr₄, CH₂Cl₂, (e) PPh₃, CH₃CN, (f) NaHMDS, THF, (g) AcSK, DMF, (h) 1N-NaOH, Allylalcohol

Scheme 10. 티올화합물 **57** 및 **63** 합성

보호된 카바페넴 엔올포스페이트와 앞서 합성한 이소옥사졸계 피롤리딘티올 **57**과 화합물 **63**을 염기로 디이소프로필에틸아민과 용매로 아세토니트릴을 사용하여 반응하면 보호된 1-베타메틸카바페넴 **64a~b**가 생성된다. 위에서 합성되어진 보호된 신규 1-베타메틸카바페넴 **101a~b**를 팔라듐(0)존재하에서 트리부틸티히드ريد로 탈보호하고 Diaion HP-20을 고정상으로 하고 증류수-THF 혼합용액을 이동상으로 하여 column chromatography 방법으로 정제하여 이소옥사졸피롤리딘티오계 신규 1β-메틸카바페넴 **65a~b**를 합성하였다.



Reagents and reaction conditions: (a) DIPEA, CH₃CN, rt, 1h; (b) Zn, phosphate buffer (pH 6.0), THF, rt, Diaion HP-20

Scheme 11. 1β-메틸카바페넴 **65a~b**의 합성

표 6-9는 P91014, P91409, P91022의 임상 분리 호기성 그람양성균(표 6), 호기성 그람음성균(표 7), 혐기성 그람양성균(표 8), 혐기성 그람음성균(표 9)에 대한 효능검색을 나타낸 것이다.

P91022의 경우 호기성 그람양성 균주 중 *E. faecium*을 제외한 모든 균주에서 시험한 카바페넴이 모두 내성을 0%의 매우 우수한 효능을 나타내었다. 호기성 그람양성 균주에 대한 효능의 서열은 IPM¹ > P91022 > MPM² > EPM³ 이었으며, 호흡기감염의 중요 균주인 *S. pneumoniae*, *S. pneumoniae*에 대해서는 P91022가 비교약물에 비해 가장 우수한 효능을 나타내었다. 호기성 그람음성 균주에 대한 효능의 서열은 MPM > P91022 > EPM > IPM 이었으며, 호기성 그람음성 균주 중 원내감염의 가장 중요 균주인 *P. aeruginosa*에 대한 내성율은 MPM 11.7%로 가장 우수하며 IPM 18.3%, P91022 20%, EPM 68.3%의 순이었다. 혐기성 그람양성 및 그람음성 균주에서는 시험한 카바페넴이 모두 내성을 0%의 매우 우수한 효능을 나타내었으며, 상기의 결과를 종합하여 볼 때, 시판 카바페넴에 비하여 P91022가 중요균주를 포함한 그람양성 및 그람음성균 모두에 대하여 가장 균형있는 효능을 나타내었다.

표 10은 P91014, P91409, P91022의 rat에서의 약물동력학적 실험결과를 비교하여 나타낸 것으로서 P91014은 대조물질인 이미페넴과 메로페넴에 비해서 모두 월등한 결과를 나타내었다. 즉, P91014, P91022, P91409은 반감기에서는 3~5배 정도의 우수한 값을 나타내었고 생체이용율에서도 3-4배의 높은 값을 나타내었다. 그러나, P91409의 경우에 대동물에서의 약물동력학적 실험 수행 결과 그다지 바람직한 결과를 얻지는 못하였다 (표 11).

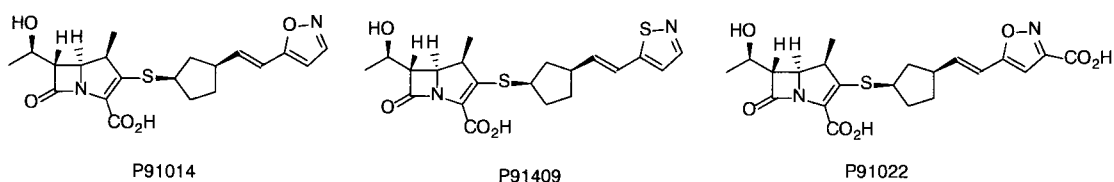


표 6. 임상 분리 호기성 그람양성균에 대한 효능검색

Organism (no. of strain)	Antibiotics	MIC (µg/mL)			R (%)
		Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀	
MSSA (33)	P91014	0.03-0.06	0.03	0.06	0
	P91409	0.015-0.06	0.03	0.06	0
	P91022	0.06-0.12	0.12	0.12	0
	IPM	0.015-0.06	0.015	0.03	0
	MPM	0.06-0.25	0.12	0.12	0
	EPM	0.25-0.5	0.25	0.25	0
	Oxacillin	0.06-0.5	0.25	0.5	0
	Gentamicin	0.06-128	0.06	64	18.2
	Levofloxacin	0.12-1	0.25	0.25	0
<i>S. coagulase</i> (22)	P91014	0.015-0.12	0.03	0.06	0
	P91409	0.015-0.120	0.015	0.03	0
	P91022	0.06-0.5	0.12	0.25	0
	IPM	0.008-0.03	0.015	0.015	0
	MPM	0.03-0.5	0.06	0.12	0
	EPM	0.12-1	0.25	0.5	0
	Oxacillin	0.06-0.25	0.06	0.12	0
	Gentamicin	0.06-64	1	4	4.5
	Levofloxacin	0.06-8	0.25	1	9.1
<i>S. pyogenes</i> (15)	P91014	<0.008	<0.008	<0.008	0
	P91409	<0.008	<0.008	<0.008	0
	P91022	<0.008	<0.008	<0.008	0
	IPM	<0.008	<0.008	<0.008	0
	MPM	<0.008	<0.008	<0.008	0
	EPM	0.008-0.015	0.15	0.15	0
	Penicillin G	0.008-0.015	<0.008	<0.008	0
	Erythromycin	0.12-128	0.12	16	13.3
	Levofloxacin	0.12-2	0.5	1	0
<i>S. agalactiae</i> (15)	P91014	0.008-0.015	0.008	0.015	0
	P91409	0.008-0.015	0.008	0.015	0
	P91022	0.008-0.015	0.008	0.015	0
	IPM	0.008-0.015	0.008	0.015	0
	MPM	0.03	0.03	0.03	0
	EPM	0.03-0.06	0.06	0.06	0
	Penicillin G	0.015-0.06	0.03	0.06	0
	Erythromycin	0.06-128	0.06	128	13.3
	Levofloxacin	0.25-0.5	0.5	0.5	0
<i>S. pneumoniae</i> (22)	P91014	0.008-0.25	0.03	0.12	0
	P91409	0.008-0.25	0.06	0.12	0
	P91022	0.008-0.25	0.008	0.12	0
	IPM	0.008-0.5	0.12	0.25	0
	MPM	0.008-0.5	0.5	0.5	0
	EPM	0.008-1	0.5	1	18.2
	Penicillin G	0.03-2	1	2	22.7
	Cefotaxime	0.008-2	1	2	13.6
	Levofloxacin	1-8	1	2	9.1

Organism (no. of strain)	Antibiotics	MIC (µg/mL)			R (%)
		Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀	
E. faecalis (30)	P91014	2-8	2	8	0
	P91409	2-8	2	8	0
	P91022	4-32	8	32	0
	IPM	0.5-4	1	4	0
	MPM	2-16	4	16	0
	EPM	4-64	16	32	0
	Ampicillin	0.5-4	1	4	0
	Levofloxacin	1-64	16	64	18.2
	Vancomycin	1-128	2	128	0
E. faecium (29)	P91014	8-128	128	128	100
	P91409	4-128	128	128	100
	P91022	16-128	128	128	100
	IPM	2-128	128	128	100
	MPM	16-128	128	128	100
	EPM	32-128	128	128	100
	Ampicillin	1-128	128	128	96.6
	Levofloxacin	1-128	64	64	96.6
	Vancomycin	0.5-128	128	128	51.7

표 7. 임상 분리 호기성 그람음성균에 대한 효능검색

Organism (no. of strain)	Antibiotics	MIC (µg/mL)			R (%)
		Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀	
M. catarrhalis (24)	P91014	0.008-0.06	0.015	0.03	0
	P91409	0.008-0.06	0.015	0.03	0
	P91022	0.015-0.06	0.03	0.06	0
	IPM	0.008-0.25	0.06	0.06	0
	MPM	0.008-0.03	0.008	0.008	0
	EPM	0.008-0.12	0.015	0.03	0
	Penicillin G	0.015-32	0.25	0.5	0
	Gentamicin	0.06-0.25	0.25	0.5	0
	Levofloxacin	0.15-0.25	0.06	0.06	0
H. influenzae (24)	P91014	0.12-4	0.5	4	0
	P91409	0.12-4	0.5	4	0
	P91022	0.25-8	0.25	4	8.3
	IPM	0.25-8	1	4	4.2
	MPM	0.06-1	0.25	1	16.7
	EPM	0.12-1	0.12	0.5	0
	Ampicillin	0.25-128	32	128	79.2
	Cefotaxime	0.008-1	0.03	0.06	0
	Levofloxacin	0.03-1	0.03	0.06	0
E. coli (30)	P91014	0.015-4	0.03	0.25	0
	P91409	0.03-8	0.06	2	0
	P91022	0.008-2	0.03	0.25	0
	IPM	0.06-1	0.12	0.5	0
	MPM	0.008-0.5	0.015	0.03	0
	EPM	0.008-4	0.008	0.12	0
	Ampicillin	2-128	128	128	60
	Cefotaxime	0.015-32	0.06	16	13.3
	Levofloxacin	0.06-32	0.06	32	36.7
C. freundii (14)	P91014	0.015-0.12	0.03	0.12	0
	P91409	0.03-0.25	0.06	0.12	0
	P91022	0.015-0.25	0.03	0.12	0
	IPM	0.06-0.5	0.12	0.5	0
	MPM	0.015-0.06	0.015	0.03	0
	EPM	0.008-0.5	0.008	0.25	0
	Ampicillin	4-128	32	128	57.1
	Cefotaxime	0.06-64	0.25	32	7.1
	Levofloxacin	0.03-32	0.5	4	7.1
K. pneumoniae (30)	P91014	0.03-0.25	0.06	0.12	0
	P91409	0.03-0.5	0.06	0.12	0
	P91022	0.015-0.25	0.03	0.12	0
	IPM	0.06-1	0.12	0.5	0
	MPM	0.015-0.06	0.03	0.06	0
	EPM	0.008-1	0.03	0.5	0
	Ampicillin	16-128	128	128	96.7
	Cefotaxime	0.008-128	8	64	13.3
	Levofloxacin	0.06-64	0.06	4	10

Organism (no. of strain)	Antibiotics	MIC ($\mu\text{g/mL}$)			R (%)
		Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀	
K. oxytoca (15)	P91014	0.03-0.12	0.06	0.06	0
	P91409	0.03-0.12	0.06	0.06	0
	P91022	0.015-0.25	0.03	0.03	0
	IPM	0.06-0.5	0.12	0.5	0
	MPM	0.015-0.06	0.03	0.03	0
	EPM	0.008-0.25	0.008	0.008	0
	Ampicillin	16-128	32	128	80
	Cefotaxime	0.015-128	0.03	0.06	6.7
	Levofloxacin	0.06-16	0.06	8	13.3
E. cloacae (29)	P91014	0.03-0.5	0.06	0.25	0
	P91409	0.03-1	0.12	1	0
	P91022	0.015-2	0.12	0.5	0
	IPM	0.12-1	0.25	1	0
	MPM	0.015-0.5	0.03	0.25	0
	EPM	0.015-2	0.12	2	0
	Ampicillin	4-128	128	128	93.1
	Cefotaxime	0.06-128	1	128	31
	Levofloxacin	0.03-8	0.06	4	6.9
E. aerogenes (14)	P91014	0.03-0.12	0.06	0.12	0
	P91409	0.03-0.25	0.06	0.25	0
	P91022	0.015-0.12	0.06	0.25	0
	IPM	0.12-0.5	0.12	0.5	0
	MPM	0.015-0.06	0.03	0.06	0
	EPM	0.008-0.5	0.06	0.5	0
	Ampicillin	2-128	128	128	92.9
	Cefotaxime	0.06-32	0.12	32	28.6
	Levofloxacin	0.03-0.12	0.06	0.12	0
S. marcescens (14)	P91014	0.03-16	0.06	8	7.1
	P91409	0.06-16	0.12	16	14.3
	P91022	0.03-16	0.03	16	14.3
	IPM	0.12-4	0.25	2	0
	MPM	0.03-8	0.03	8	14.3
	EPM	0.015-16	0.06	16	14.3
	Ampicillin	32-128	128	128	100
	Cefotaxime	0.12-128	0.5	128	28.5
	Levofloxacin	0.06-8	0.25	8	14.3
P. mirabilis (15)	P91014	0.06-0.12	0.06	0.12	0
	P91409	0.06-0.25	0.12	0.25	0
	P91022	0.015-0.06	0.03	0.06	0
	IPM	0.25-4	2	2	0
	MPM	0.015-0.06	0.06	0.06	0
	EPM	0.008-0.015	0.008	0.015	0
	Ampicillin	1-128	32	128	53.3
	Cefotaxime	0.015-0.03	0.03	0.03	13.3
	Levofloxacin	0.06-2	0.06	1	0

표 8. 임상 분리 혐기성 그람양성균에 대한 효능검색

Organism (no. of strain)	Antibiotics	MIC ($\mu\text{g/mL}$)			R (%)
		Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀	
P. vulgaris (15)	P91014	0.06-0.12	0.06	0.12	0
	P91409	0.06-0.12	0.12	0.12	0
	P91022	0.03-0.06	0.06	0.06	0
	IPM	0.25-2	1	2	0
	MPM	0.03-0.06	0.06	0.06	0
	EPM	0.008-0.03	0.015	0.015	0
	Ampicillin	2-128	128	128	80
	Cefotaxime	0.015-0.12	0.03	0.06	0
	Levofloxacin	0.03-1	0.03	0.5	0
M. morgani (15)	P91014	0.12-0.25	0.12	0.25	0
	P91409	0.12-0.5	0.25	0.5	0
	P91022	0.03-0.12	0.03	0.06	0
	IPM	0.5-2	1	2	0
	MPM	0.03-0.12	0.06	0.12	0
	EPM	0.008-0.03	0.008	0.03	0
	Ampicillin	64-128	128	128	100
	Cefotaxime	0.03-64	0.06	16	6.7
Levofloxacin	0.03-64	0.5	64	26.7	
P. spp. (13)	P91014	0.015-8	0.25	8	0
	P91409	0.06-16	0.25	16	15.4
	P91022	0.008-8	0.06	8	0
	IPM	0.25-4	2	2	0
	MPM	0.015-2	0.06	2	0
	EPM	0.008-16	0.03	16	23.1
	Ampicillin	2-128	64	128	61.5
	Cefotaxime	0.008-32	0.06	2	7.7
Levofloxacin	0.03-128	8	128	53.8	
A. baumannii (30)	P91014	1-32	4	16	30
	P91409	2-64	8	32	43.3
	P91022	2-128	8	64	43.3
	IPM	0.25-32	1	8	13.4
	MPM	0.25-64	1	8	16.7
	EPM	4-128	8	64	46.7
	Piperacillin	16-128	128	128	76.7
	Ceftazidime	4-128	128	128	80
	Levofloxacin	0.12-16	8	16	70
P. aeruginosa (60)	P91014	0.25-128	8	64	50
	P91409	0.5-128	8	64	50
	P91022	0.06-128	4	64	20
	IPM	0.5-128	2	16	18.3
	MPM	0.06-128	2	16	11.7
	EPM	1-128	32	128	68.3
	Piperacillin	2-128	64	128	50
	Ceftazidime	0.5-128	8	64	38.3
	Levofloxacin	0.03-128	32	64	61.6

Organism (no. of strain)	Antibiotics	MIC ($\mu\text{g/mL}$)			R (%)
		Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀	
P. spp. (27)	P91014	0.06-2	0.06	2	0
	P91409	0.06-2	0.06	2	0
	P91022	0.06-4	0.12	4	0
	IPM	0.06-2	0.06	2	0
	MPM	0.06-4	0.06	4	0
	EPM	0.06-4	0.12	4	0
	Ampicillin	0.06-16	0.12	16	29.6
	Cefoxitin	0.06-16	0.5	8	0
	Clindamycin	0.06-128	0.5	128	22.2
C. perfringens (13)	P91014	<0.06	<0.06	<0.06	0
	P91409	<0.06	<0.06	<0.06	0
	P91022	0.06-0.12	0.06	0.12	0
	IPM	0.06-0.12	0.06	0.12	0
	MPM	<0.06	<0.06	<0.06	0
	EPM	0.06-0.12	0.06	0.12	0
	Ampicillin	0.06-0.12	0.06	0.12	0
	Cefoxitin	0.5-2	1	2	0
	Clindamycin	0.06-4	1	4	30.8
C. difficile (15)	P91014	1-2	1	2	0
	P91409	2-4	2	4	0
	P91022	2-4	4	4	0
	IPM	4-16	8	8	6.7
	MPM	1-2	1	2	0
	EPM	4-8	4	8	0
	Ampicillin	0.5-2	0.5	1	6.7
	Clindamycin	1-128	128	128	86.7
	Metronidazole	1-4	4	4	0

표 9. 임상 분리 혐기성 그람음성균에 대한 효능검색

Organism (no. of strain)	Antibiotics	MIC (µg/mL)			R (%)
		Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀	
B. fragilis (34)	P91014	0.25-2	0.5	0.5	0
	P91409	0.25-2	0.5	1	0
	P91022	0.25-4	0.5	1	0
	IPM	0.06-2	0.25	0.5	0
	MPM	0.12-4	0.12	0.25	0
	EPM	0.12-4	0.25	1	0
	Amp-Sulbactam	0.5-16	1	8	5.9
	Cefoxitin	4-128	8	32	11.7
	Clindamycin	0.5-128	128	128	62.7
B. thetaiotaomicron. (15)	P91014	0.5-4	1	2	0
	P91409	0.5-4	2	4	0
	P91022	0.5-8	1	4	0
	IPM	0.12-16	0.5	4	6.7
	MPM	0.25-2	0.25	0.5	0
	EPM	0.25-8	2	2	0
	Amp-Sulbactam	1-64	2	32	20
	Cefoxitin	8-64	16	32	46.7
	Clindamycin	4-128	128	128	100
B. spp. (11)	P91014	0.5-1	1	1	0
	P91409	0.5-1	1	1	0
	P91022	1-2	1	1	0
	IPM	0.25-2	0.5	1	0
	MPM	0.12-0.5	0.5	0.5	0
	EPM	0.5-2	1	2	0
	Amp-Sulbactam	0.5-32	8	16	9.1
	Cefoxitin	4-64	16	32	36.4
	Clindamycin	0.12-128	128	128	72.7

표 10. P91014, P91022, P91409의 랫트에서의 약물동력학적 자료^a.

	P91014	P91022	P91409	MPM	IPM	Tianam
T _{1/2} (min)	10.1±0.443	12.4±4.1	23.5±6.8	3.99±0.24	3.46±0.10	38.3±4.1
AUC(μg.min/mL)	1166±92.4	1519±168	1801±486	383±36	330±23	4543±143
CL (mL/min/kg)	17.23±1.42	13.3±1.5	11.6±2.7	54.16±5.27	61.50±3.65	4.7±1

^a at a single intravenous administration of 20 mg/kg in rat

표 11. P91409의 약물동력학적 자료 (iv)

	Rat		Dog	
	P91409 (20 mg/kg)	MPM (20 mg/kg)	P91409 (5 mg/kg)	MPM (20 mg/kg)
T _{1/2} (min)	235±6.8	3.99±4.1	28.9±0.9	35.6
AUC (μg.min/mL)	1801±486	383±36	527±7	4049
CL (mL/min/kg)	11.6±2.7	54.2±3.7	9.50±0.1	5

표 12. 표준균주에 대한 MIC와 DHP-I에 대한 감수성 실험

Minimum Inhibitory Concentration (µg/mL)

균주 ¹			P91022	P91023				MPM ²	IPM ³
1	<i>S. pyogenes</i>	308A	0.049	0.007				0.007	0.003
2	<i>S. pyogenes</i>	77A	0.049	<0.002				0.007	<0.002
3	<i>S. faecium</i>	MD8b	12.50	3.125				12.5	0.781
4	* <i>S.aureus</i>	SG511	0.098	0.049				0.098	0.013
5	* <i>S.aureus</i>	285	0.195	0.049				0.195	0.013
6	* <i>S.aureus</i>	503	0.098	0.025				0.098	0.007
7	<i>E. coli</i>	055	0.025	0.025				0.025	0.098
8	<i>E. coli</i>	DC 0	0.025	0.049				0.025	0.195
9	<i>E. coli</i>	DC 2	0.025	0.025				0.025	0.195
10	<i>E. coli</i>	TEM	0.025	0.049				0.025	0.098
11	<i>E.coli</i>	1507E	0.025	0.049				0.025	0.098
12	<i>P. aeruginosa</i>	9027	0.098	3.125				0.195	0.391
13	<i>P.aeruginosa</i>	1592E	0.195	3.125				0.098	0.781
14	<i>P. aeruginosa</i>	1771	0.391	3.125				0.391	0.781
15	<i>P. aeruginosa</i>	1771M	0.391	0.391				0.098	0.195
16	** <i>S. typhimurium</i>		0.049	0.049				0.049	0.781
17	<i>K. oxytoca</i>	1082E	0.049	0.098				0.049	0.195
18	<i>K. aerogenes</i>	1522E	0.049	0.049				0.049	0.195
19	* <i>E.cloacae</i>	P99	0.098	0.098				0.049	0.098
20	* <i>E.cloacae</i>	1321E	0.025	0.025				0.025	0.098
DHP-I Susceptibility⁴			4.57	1.48				1.00	0.15

1. *S.*; *Streptococcus*, **S.*; *Staphylococcus*, *E.*; *Escherichia*, *P.*; *Pseudomonas*,

***S.* ; *Salmonella*, *K.*; *Klebsiella*, **E.*; *Enterobacter*

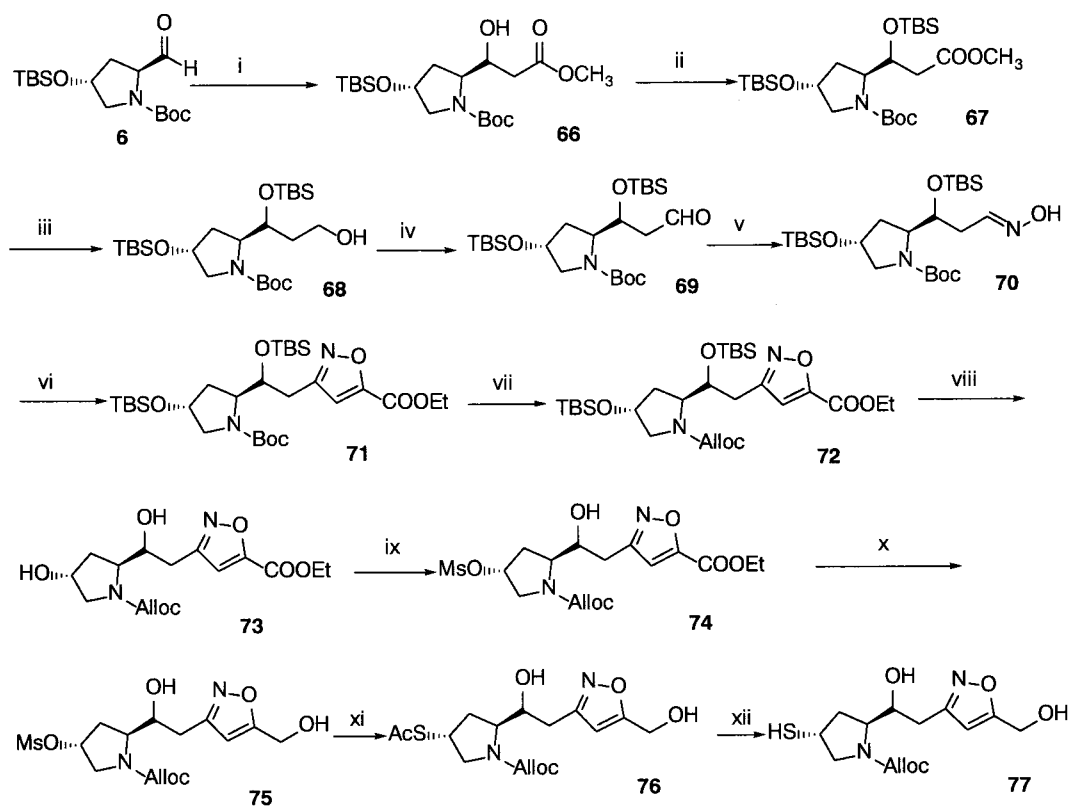
2. Imipenem

3. Meropenem

4. Relative $t_{1/2}$ of hydrolysis to Meropenem

6. 이소옥사졸로피롤리딘티오카바페넴 연구

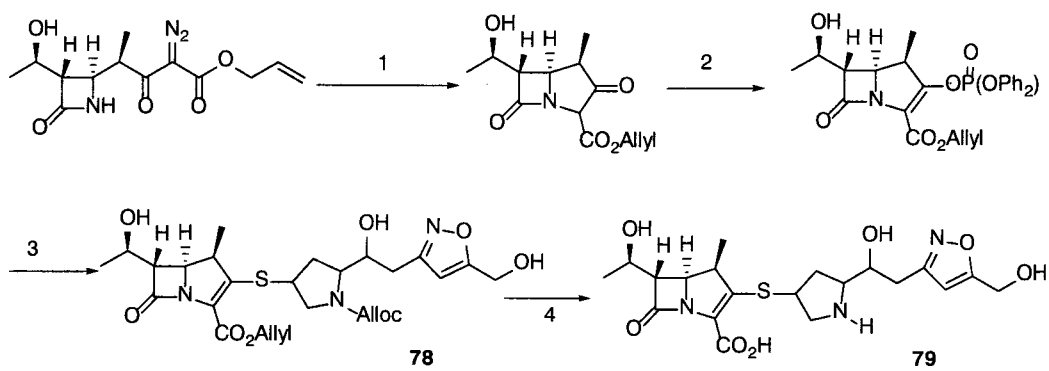
이소옥사졸-3-일-피롤리딘을 합성하기 위해서는 피롤리딘 고리의 C2 위치에 1,3-dipole로 nitrile oxide를 도입하여 ethyl acrylate와 같은 dipolarophile과 cyclo-addition 하여야 한다. 앞서 합성한 알데히드 **6**을 NaHMDS와 methylacetate을 THF하에서 반응하여 화합물 **66**을 합성하고 TBS기를 도입 **67**하여 에스터기를 환원시켜 화합물 **68**을 얻었다. 이것을 SO₃-pyridine으로 산화시켜 화합물 **69**를 합성 후 히드록실아민과 반응시키면 nitrile oxide의 전구체인 히드록시이미도기가 도입된 화합물 **70**이 합성된다. 여기에 N-chlorosuccinimide 및 트리에틸아민을 작용시키면 nitrile oxide가 생성되고 in situ로 ethyl acrylate와 반응시켜 보호된 이소옥사졸-3-일-피롤리딘 **71**을 합성하였다. 화합물 **71**의 Boc을 50%-THF+mc하에서 제거하고 여기에 allocCl을 반응시켜 화합물 **72**를 얻고, TBS기를 테트라부틸암모늄 플로리드로 탈보호하여 히드록시기로 전환하고 이를 메실화한 후, NABH₄와 LiCl로부터 환원하여 화합물 **75**를 얻었다. 앞과 동일한 방법으로 화합물 **75**의 피롤리딘의 C4 위치를 티올로 반전, 치환하여 이소옥사졸-3-일-피롤리딘티올계 화합물 **77**을 합성하였다.



Reagents and reaction conditions: (i) NaHMDS, methylacetate, THF, (90%); (ii) TBSCl, imidazole, DMF, 0°C to rt, 1.5h (85%); (iii) NaBH₄, LiCl, THF-EtOH, 0°C to rt, 4h (95%); (iv) Py·SO₃, TEA, DMSO, 0°C to rt, 30min (84%); (v) NH₂OH·HCl, pyridine, EtOH; (vi) NCS, ethylpropionate, TEA, DMF, 70%; (vii) allylchloroformate, TEA, MC, 85%; (viii) TBAF, THF, 90%; (ix) MsCl, TEA, MC, 90%; (x) NaBH₄, LiCl, THF-EtOH, 0°C to rt, 4h (95%); (xi) CH₃COSK, CH₃CN, 65%

Scheme 12. 이소옥사졸-3-일-피롤리딘티올계 화합물 77의 합성

보호된 카바페넴 엔올포스페이트와 앞서 합성한 이소옥사졸계 피롤리딘티올 77을 염기로 디이소프로필에틸아민과 용매로 아세트니트릴을 사용하여 반응하면 보호된 1β-메틸카바페넴 78이 생성된다. 위에서 합성되어진 보호된 신규 1β-메틸카바페넴 79를 팔라듐(0)존재하에서 트리부틸탄히드ريد로 탈보호하고 Diaion HP-20을 고정상으로 하고 증류수-THF 혼합용액을 이동상으로 하여 column chromatography 방법으로 정제하여 이소옥사졸피롤리딘티올계 신규 1β-메틸카바페넴 79를 합성하였다.

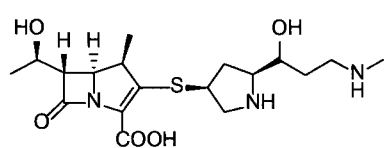


1) $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$, E/H=3/1, [2] DIEA, $\text{Cl}_2\text{PO}(\text{OPh}_2)$, CH_3CN , [3] DIEA, thiol, CH_3CN , 70%, [4], Bu_3SnH , SEH, MC, 50%

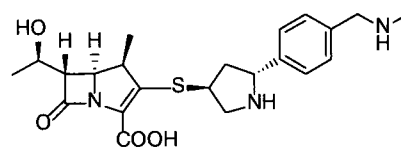
Scheme 13. 이소옥사졸피롤리딘티오계 1β-메틸카바페넘 79의 합성

7. 이소옥사졸리노피롤리딘티오 카바페넴 연구

일본의 Banyu사는 녹농균 (*Pseudomonas*)에 탁월한 효능을 나타내는 BO-2727을 개발 중에 있으며, 피롤리딘 고리의 C2 위치에 lipophilic한 벤젠고리를 직접 도입한 J-111,225가 녹농균과 MRSA에 모두 우수한 효능을 나타낸다고 보고하였다.

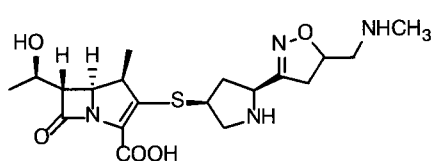


BO-2727

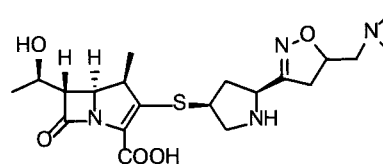


J-111,225

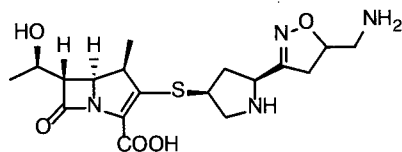
본 연구에서는 피롤리딘 고리의 C2 위치를 이소옥사졸린을 직접 도입한 구조식 101a~g의 카바페넴을 합성하고 이들 화합물의 제반 생리활성을 시험하여 구조-활성 상관관계를 연구하고자 하였다.



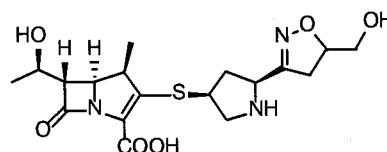
101a, KIST-P2209



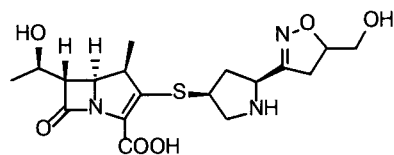
101b, KIST-P2208



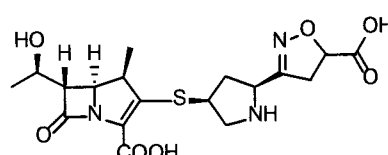
101c, KIST-P2206



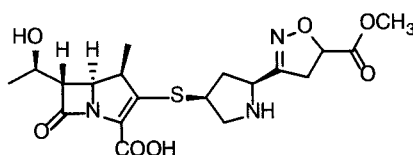
101d, KIST-P2204



101e, KIST-P2205



101f, KIST-P2210

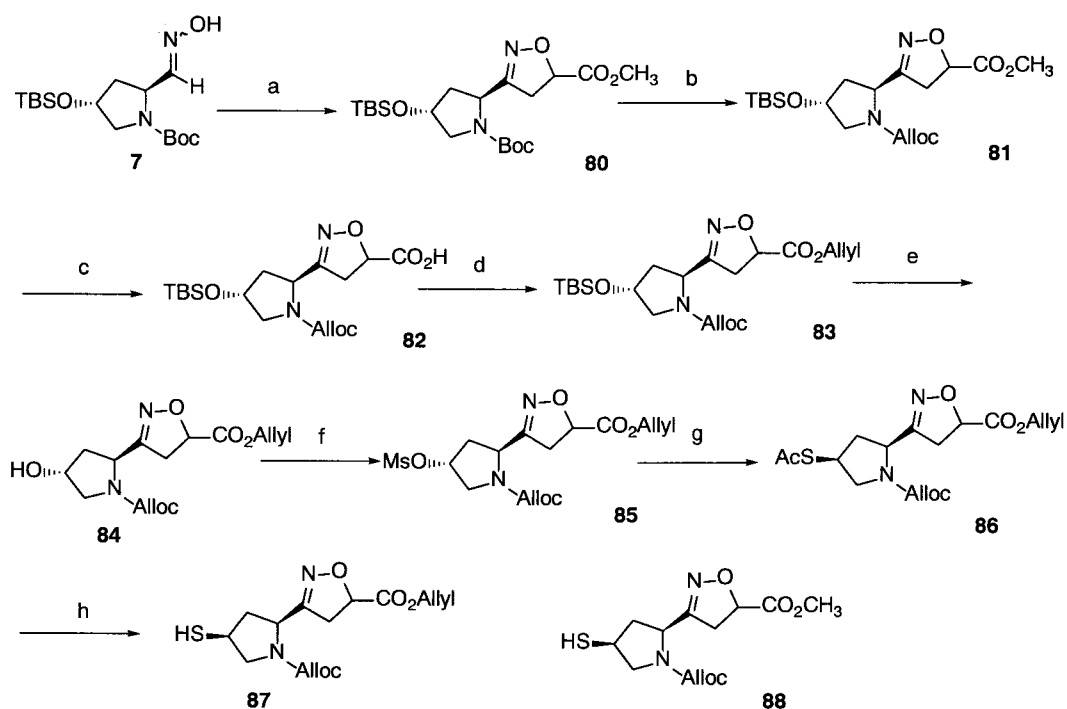


101g, KIST-P2207

그림 8. Isoxazolinopyrrolidinothio carbapenems 101a~g

이소옥사졸-3-일-피롤리딘을 합성하기 위해서는 피롤리딘 고리의 C2 위치에 1,3-dipole로 nitrile oxide를 도입하여 ethyl acrylate와 같은 dipolarophile과 cyclo-addition 하여야 한다.

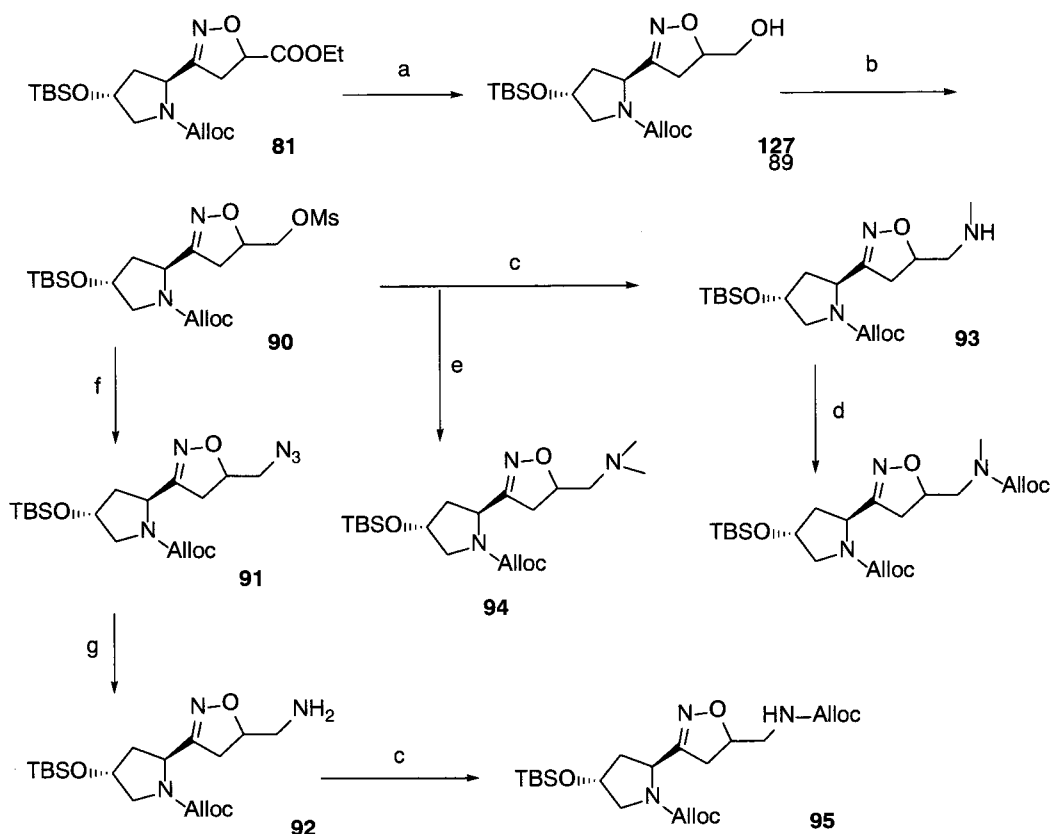
앞서 합성한 알데히드 **6**을 히드록실아민과 반응시키면 nitrile oxide의 전구체인 히드록시이미도기가 도입된 화합물 **7**이 합성된다. 여기에 N-chlorosuccinimide 및 트리에틸아민을 작용시키면 nitrile oxide가 생성되고 in situ로 ethyl acrylate와 반응시켜 보호된 이소옥사졸-3-일-피롤리딘 **80**을 합성하였다. 화합물 **80**의 Boc을 50%-THF+mc하에서 제거하고 여기에 allocCl을 반응시켜 화합물 **81**을 얻고, claisen base하에서 산으로 만들고 여기에 알킬화하여 화합물 **83**을 얻었다. TBS기를 테트라부틸암모늄 플로리드로 탈보호하여 히드록시기로 전환하고 이를 메실화한 후, 앞과 동일한 방법으로 환원하여 화합물 **85**를 합성한다. 화합물 **85**와 화합물 ester의 피롤리딘의 C4 위치를 티올로 반전, 치환하여 이소옥사졸-3-일-피롤리딘티올계 화합물 **87**과 **88**을 각각 합성하였다.



Reagent and reaction conditions (a) i) NCS, DMF, rt-60°C, 30min ii) methylpropiolate, TEA, DMF, 0°C-rt, 2h (60.6%) (b) i) CH₂Cl₂/TFA=1/1, 0°C, 1h ii) allylchloroformate, TEA, CH₂Cl₂, rt, 2h (70%) (c) claisen alkali, MeOH, 0°C, 1h (98%) (d) allylbromide, TEA, DMF, 60°C, 30min (76%) (e) Bu₄NF, THF, 0°C, 1.5h (72%) (f) MsCl, TEA, CH₂Cl₂, rt, 2h (87%) (g) AcSK, CH₃CN, reflux, 8h (70%) (h) 1N-Na SMe, allyl alcohol, 0°C, 30min

Scheme 14. 이소옥사졸-3-일-피롤리딘티올계 화합물 **87**과 **88**의 합성

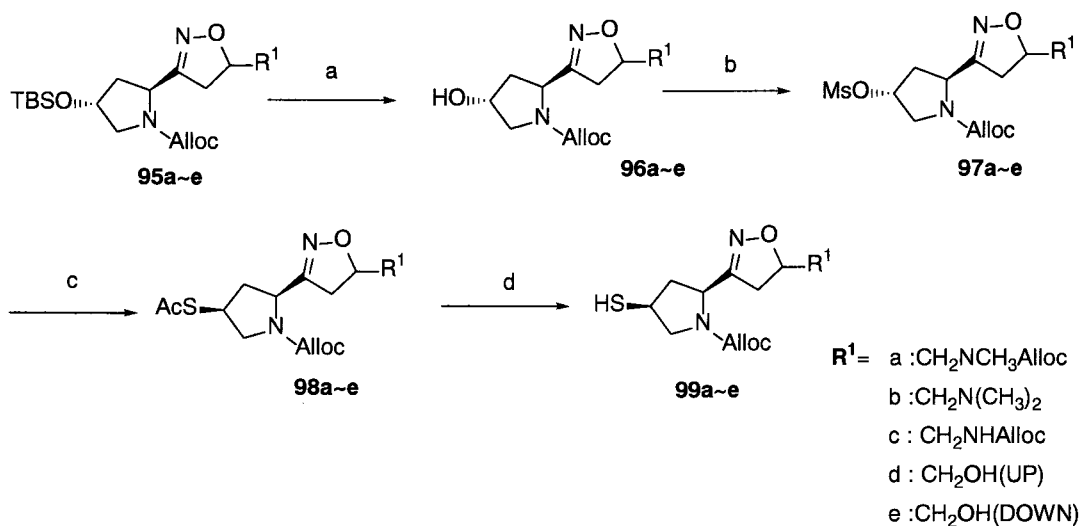
앞서 합성한 화합물 **81**을 NaBH₄와 LiCl로부터 환원시켜 화합물 **89**를 합성 후 이를 메실화한 후 sodium azide로 화합물 **91**을 methylamine과 dimethylamine을 반응시켜, 화합물 **93**, **94**를 각각 얻은 후 triphenyl phosphine과 몰로부터 합성된 화합물 **92**와 **93**을 각각 보호기인 alloc기로 화합물을 합성하여 다음 반응에 사용하였다.



Reagent and reaction conditions ; (a) NaBH₄, LiCl, EtOH, THF; (b) MsCl, TEA, Mc; (c) CH₃NH₂, THF; (d) Alloc-Cl, Et₃N, CH₂Cl₂; (e) (CH₃)₂NH, THF; (f) NaN₃, acetonitrile; (g) Ph₃P, H₂O, THF

Scheme 15. Alloc기로 보호된 화합물 **95**의 합성

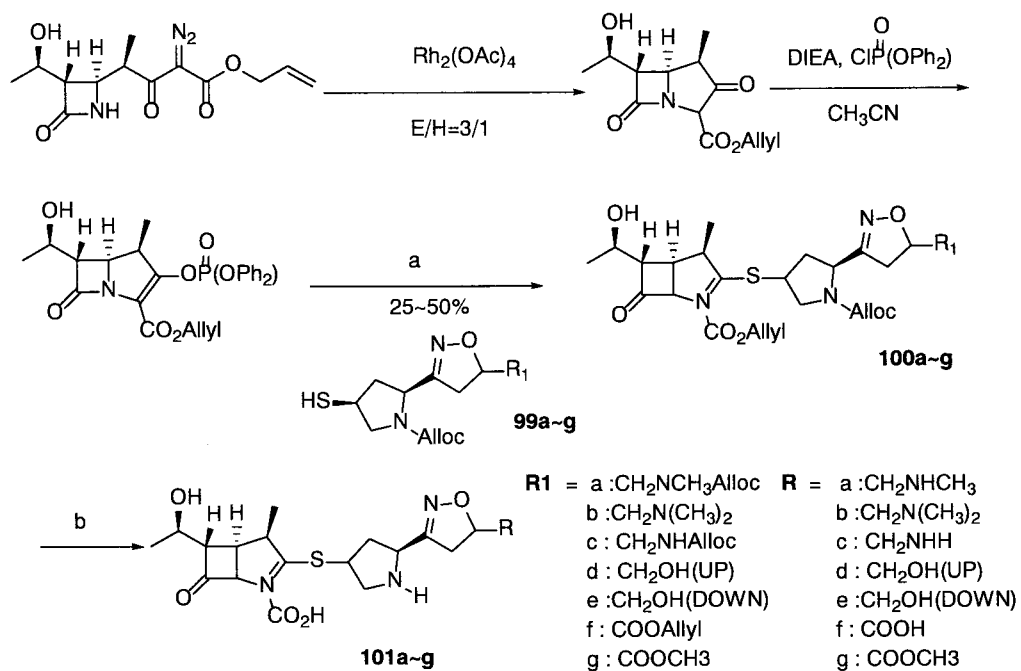
앞에서 합성한 화합물 **81**을 환원하여 알코올을 만든 후, OH기를 메실화한 후, 아래의 R1기를 도입하여 화합물 **95a~e**를 합성한 다음 각각의 화합물의 TBS기를 테트라부틸암모늄 플로리드로 탈보호하여 히드록시기로 전환하고 이를 메실화한 후, 앞과 동일한 방법으로 환원하여 화합물 **97a~e**를 합성한다. 화합물 **97a~e** 화합물의 피롤리딘의 C4 위치를 티올로 반전, 치환하여 이소옥사졸-3-일-피롤리딘티올계 화합물 **99a~e**를 각각 합성하였다.



Reagent and reaction conditions ; (a) Bu_4NF , THF, 0°C , 1.5h (72%) (b) MsCl , TEA, CH_2Cl_2 , rt, 2h (87%) (c) AcSK , CH_3CN , reflux, 8h (70%) (d) 1N- NaOH , EtOH, 0°C , 30min

Scheme 16. 이소옥사졸-3-일-피롤리딘티올계 화합물 99a~e의 합성

보호된 카바페넴 엔올포스페이트와 앞서 합성한 이소옥사졸계 피롤리딘티올 99a~e, 87, 88을 염기로 디이소프로필에틸아민과 용매로 아세트니트릴을 사용하여 반응하면 보호된 1-베타메틸카바페넴 100a~g가 생성된다. 위에서 합성되어진 보호된 신규 1-베타메틸카바페넴 100a~e를 팔라듐(0)존재하에서 트리부틸틴히드ريد로 탈보호하고 Diaion HP-20을 고정상으로 하고 증류수-THF 혼합용액을 이동상으로 하여 column chromatography 방법으로 정제하여 이소옥사졸피롤리딘티올계 신규 1β-메틸카바페넴 101a~g를 합성하였다.



Scheme ; Reagents and reaction conditions: (a) DIPEA, CH_3CN , rt, 1h; (b) Bu_3SnH, SEH, MC , 50%, Diaion HP-20

Scheme 17. 이소옥사졸피롤리딘티오계 1β-메틸카바페탐 **101a~g**의 합성

표 13. 이소옥사졸로피롤리딘티오 카바페넴의 표준균주에 대한 MIC와 DHP-I에 대한 감수성 실험

Minimum Inhibitory Concentration ($\mu\text{g/mL}$)

균주 ¹			101a	101b	101c	101d	101e	MPM ²	IPM ³
1	<i>S. pyogenes</i>	308A	0.007	0.007	0.004	0.013	0.007	0.007	0.003
2	<i>S. pyogenes</i>	77A	0.013	0.013	0.007	0.007	0.013	0.007	<0.002
3	<i>S. faecium</i>	MD8b	3.125	6.250	3.125	6.250	6.250	12.5	0.781
4	* <i>S.aureus</i>	SG511	0.049	0.049	0.049	0.098	0.098	0.098	0.013
5	* <i>S.aureus</i>	285	0.195	0.195	0.098	0.195	0.195	0.195	0.013
6	* <i>S.aureus</i>	503	0.049	0.049	0.025	0.049	0.049	0.098	0.007
7	<i>E. coli</i>	055	0.049	0.025	0.025	0.013	0.013	0.025	0.098
8	<i>E. coli</i>	DC 0	0.098	0.098	0.049	0.025	0.025	0.025	0.195
9	<i>E. coli</i>	DC 2	0.098	0.098	0.349	0.025	0.025	0.025	0.195
10	<i>E. coli</i>	TEM	0.049	0.049	0.049	0.013	0.013	0.025	0.098
11	<i>E.coli</i>	1507E	0.049	0.049	0.049	0.013	0.025	0.025	0.098
12	<i>P. aeruginosa</i>	9027	0.781	1.563	0.781	0.781	0.781	0.195	0.391
13	<i>P.aeruginosa</i>	1592E	0.781	1.563	0.781	0.781	0.781	0.098	0.781
14	<i>P. aeruginosa</i>	1771	3.125	3.125	1.563	3.125	3.125	0.391	0.781
15	<i>P. aeruginosa</i>	1771M	0.391	0.781	0.195	0.195	0.391	0.098	0.195
16	** <i>S. typhimurium</i>		0.195	0.098	0.098	0.049	0.049	0.049	0.781
17	<i>K.oxytoca</i>	1082E	0.195	0.195	0.195	0.195	0.098	0.049	0.195
18	<i>K. aerogenes</i>	1522E	0.098	0.098	0.098	0.049	0.049	0.049	0.195
19	* <i>E.cloacae</i>	P99	0.195	0.195	0.195	0.098	0.098	0.049	0.098
20	* <i>E.cloacae</i>	1321E	0.049	0.049	0.049	0.025	0.025	0.025	0.098
DHP-I Susceptibility⁴			0.68	0.66	0.55	0.43	0.46	1.00	0.15

1. *S.*; *Streptococcus*, **S.*; *Staphylococcus*, *E.*; *Escherichia*, *P.*; *Pseudomonas*,

***S.* ; *Salmonella*, *K.*; *Klebsiella*, **E.*; *Enterobacter*

2. Imipenem

3. Meropenem

4. Relative $t_{1/2}$ of hydrolysis to Meropenem

표 14. 이소옥사졸로피롤리딘티오 카바페넴의 표준균주에 대한 MIC와 DHP-I에 대한 감수성 실험

Minimum Inhibitory Concentration (µg/mL)

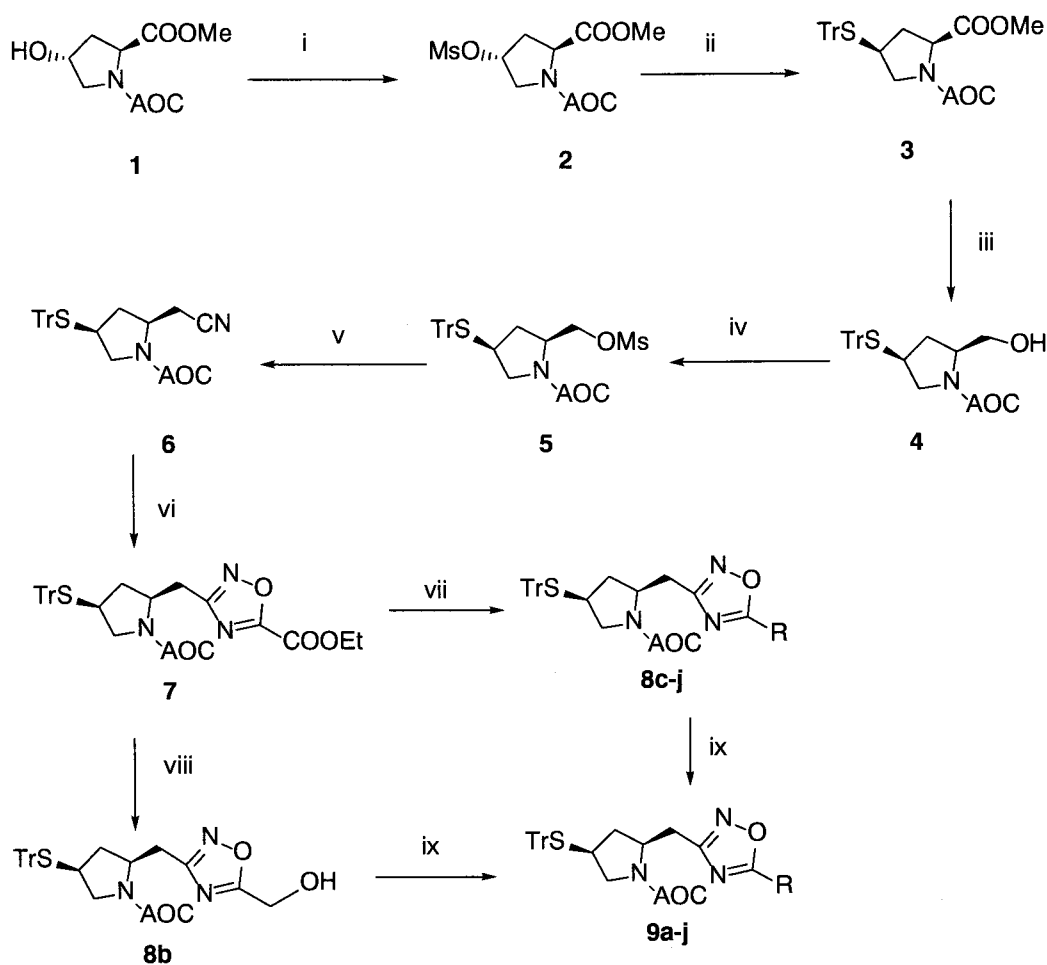
균주 ¹			101f	101g	79			MPM ²	IPM ³
1	<i>S. pyogenes</i>	308A	0.007	0.025	<0.002			0.007	0.003
2	<i>S. pyogenes</i>	77A	0.025	0.013	0.004			0.007	<0.002
3	<i>S. faecium</i>	MD8b	50.00	12.50	6.250			12.5	0.781
4	* <i>S.aureus</i>	SG511	0.781	0.195	0.098			0.098	0.013
5	* <i>S.aureus</i>	285	1.563	0.391	0.098			0.195	0.013
6	* <i>S.aureus</i>	503	0.781	0.195	0.049			0.098	0.007
7	<i>E. coli</i>	055	0.013	0.007	0.025			0.025	0.098
8	<i>E. coli</i>	DC 0	0.025	0.013	0.049			0.025	0.195
9	<i>E. coli</i>	DC 2	0.025	0.013	0.049			0.025	0.195
10	<i>E. coli</i>	TEM	0.013	0.007	0.049			0.025	0.098
11	<i>E.coli</i>	1507E	0.013	0.013	0.049			0.025	0.098
12	<i>P. aeruginosa</i>	9027	1.563	1.596	0.391			0.195	0.391
13	<i>P.aeruginosa</i>	1592E	3.125	1.563	0.391			0.098	0.781
14	<i>P. aeruginosa</i>	1771	12.50	6.250	1.563			0.391	0.781
15	<i>P. aeruginosa</i>	1771M	3.125	1.563	0.391			0.098	0.195
16	** <i>S. typhimurium</i>		0.049	0.025	0.098			0.049	0.781
17	<i>K.oxytoca</i>	1082E	0.195	0.195	0.098			0.049	0.195
18	<i>K. aerogenes</i>	1522E	0.025	0.025	0.098			0.049	0.195
19	* <i>E.cloacae</i>	P99	0.391	0.098	0.195			0.049	0.098
20	* <i>E.cloacae</i>	1321E	0.025	0.013	0.049			0.025	0.098
DHP-I Susceptibility⁴			1.34	0.41	2.48			1.00	0.15

PART B

본 연구는 신규 유효 화합물을 얻기 위해서 카바페넴 모핵에 옥사디아아졸, 아미노옥심, 아미노에틸카바모일이 치환된 여러 가지 티오 유도체를 합성하여 도입하였고, 그 합성과정을 다음과 같이 나타내었다.

1. 옥사디아아졸이 치환된 카바페넴 유도체 합성

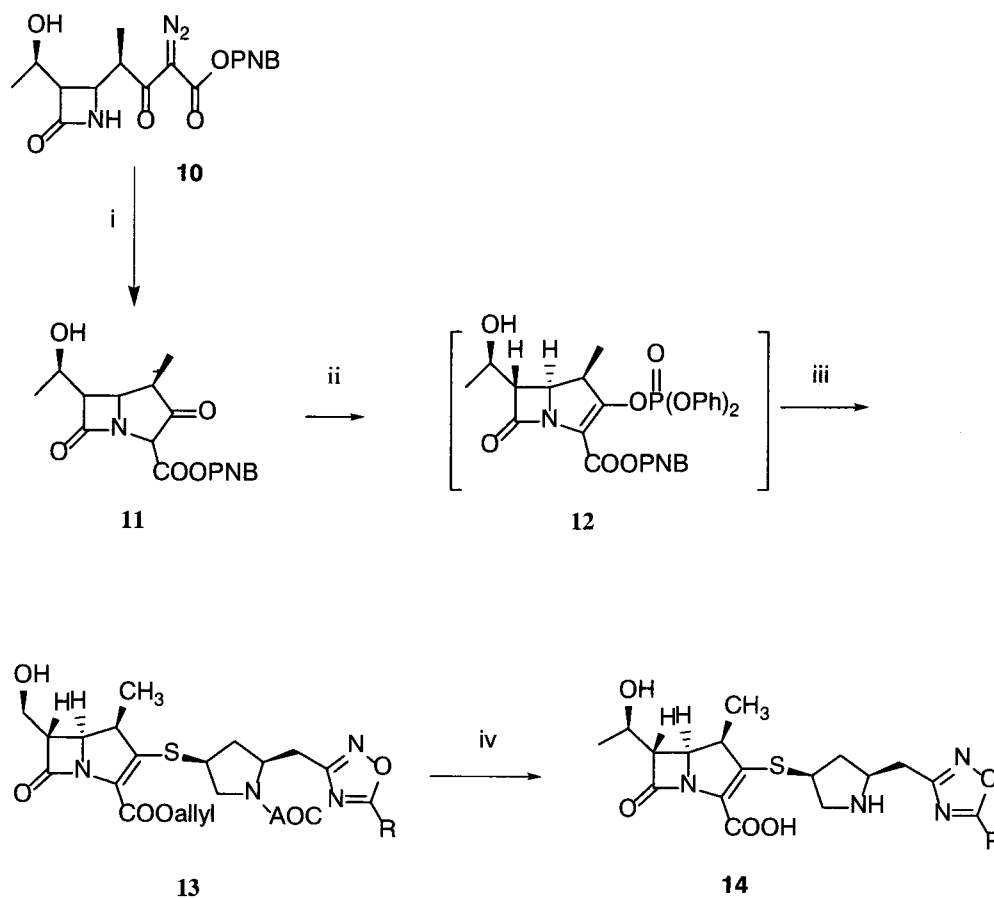
티올 유도체의 제조 방법은, 4-hydroxy-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine-2-carboxylic methyl ester **1**를 mesylchloride와 반응하여 화합물 **2**를 얻을 수 있었으며, 화합물 **2**를 염기 소듐보로하이드라이드의 존재하에 트리페닐 메틸 메르캇탄을 반응하여 트리틸티올을 도입하여 화합물 **3**을 합성하여 환원시켜 화합물 **4**를 얻을 수 있었다. 화합물 **4**를 mesylation하여 **5**를 얻고, 소듐 시안나이드와 반응시켜 nitrile이 치환된 화합물 **6**을 합성하였다. 화합물 **6**을 hydroxyamine과 반응하여 중간체인 아미노 옥심기를 거쳐 ethyloxalyl chloride와 반응하여 옥사디아아졸고리를 갖는 화합물 **7**을 합성하였고, alkylamine (R1를 가진 amine)을 가열 환류시켜 화합물 **8**을 얻었으며, 화합물 **7**을 reduction 시켜 화합물 **9**를 합성하여 trifluoroacetic acid, triethyl silane를 이용하여 원하는 티올화합물 **10**을 합성하였다.



R: a=COOEt b=CH₂OH c=CONH₂, d= CONHCH₃,
 e= CON(CH₃)₂ f=CONH(CH₂)₂OH, g= CONH(CH₂)₃OH
 h= CONHCH₂CH(OH)CH₂OH, i= CONHOH
 j= CONH(CH₂)₂NH₂

i) MsCl, TEA, CH₂Cl₂ ii) TrSH, NaH, DMF c) NaBH₄, EtOH iv) MsCl, TEA, CH₂Cl₂
 v) NaCN, DMSO vi) 1) Hydroxylamine.HCl, EtOH 2) Ethyloxalyl chloride, THF, reflux
 vii) R-NH₂, EtOH, reflux viii) NaBH₄, THF:EtOH=1:2
 ix) Trifluoroacetic acid, Triethyl silane, CH₂Cl₂

최종화합물인 1 β -methyl-2-thio계 carbapenem 유도체 **14**는 다음과 같은 반응 과정을 통해 제조할 수 있다.



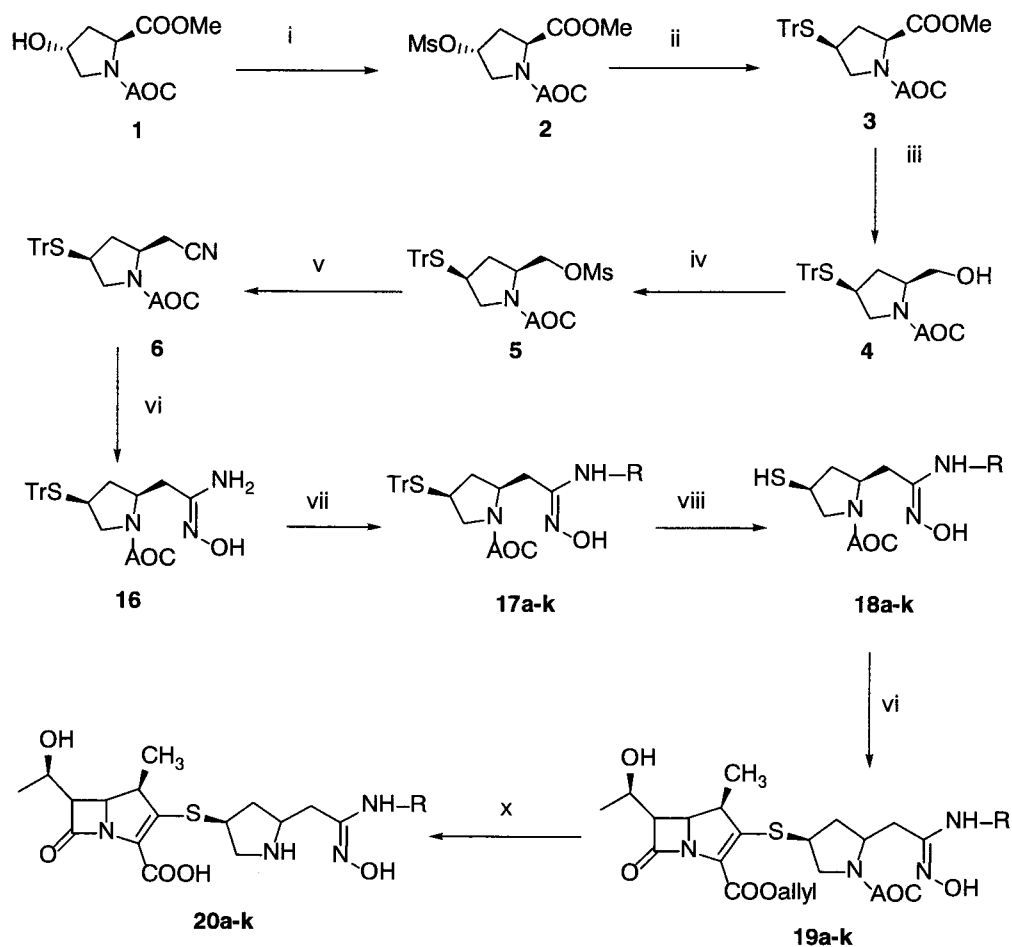
(i) Rhodium acetate, reflux. (ii) *N,N*-diisopropyl ethyl amine, Diphenyl chlorophosphate, CH₃CN. (iii) *N,N*-diisopropyl ethyl amine, **9a-j** (iv) Palladium hydroxide/charcol(10%), Tetrahydrofuran,



출발물질로서 화합물 **11**을 염기 존재 하에 diphenyl chlorophosphate와 반응시켜 **12**을 생성한다. 상기 화합물 **12**을 염기 존재 하에서 일반식 (9)의 thiol 유도체와 반응시켜 보호화 된 carbapenem 화합물(**13**)을 얻는다. 화합물(**13**)을 hydrogen과 palladium hydroxide catalyst를 사용하여 deprotection 시킨 후 정제 하면 최종 화합물(**14**)을 얻을 수 있다.

2. 아미노 옥심이 치환된 카바페넴 유도체 합성

티올 유도체의 제조 방법은, 4-hydroxy-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine-2-carboxylic methyl ester **1**를 앞에서 설명한 화합물 **5**의 합성과정과 같으며, 화합물 **6**를 hydroxyamine과 반응 하여 중간체인 아미노 옥심기를 갖는 **16**를 합성하였고, acyl 또는 sulfonyl halide (R1를 가진 amine)를 반응시켜 **17**를 얻었으며, 화합물 **17**를 trifluoroacetic acid, triethyl silane를 이용한 deprotection으로 **18**를 합성하였다.

최종화합물인 1 β -methyl-2-thio계 carbapenem 유도체 **20**는 앞에서 최종합성 방법과 같은 반응과정을 통해 제조할 수 있다.

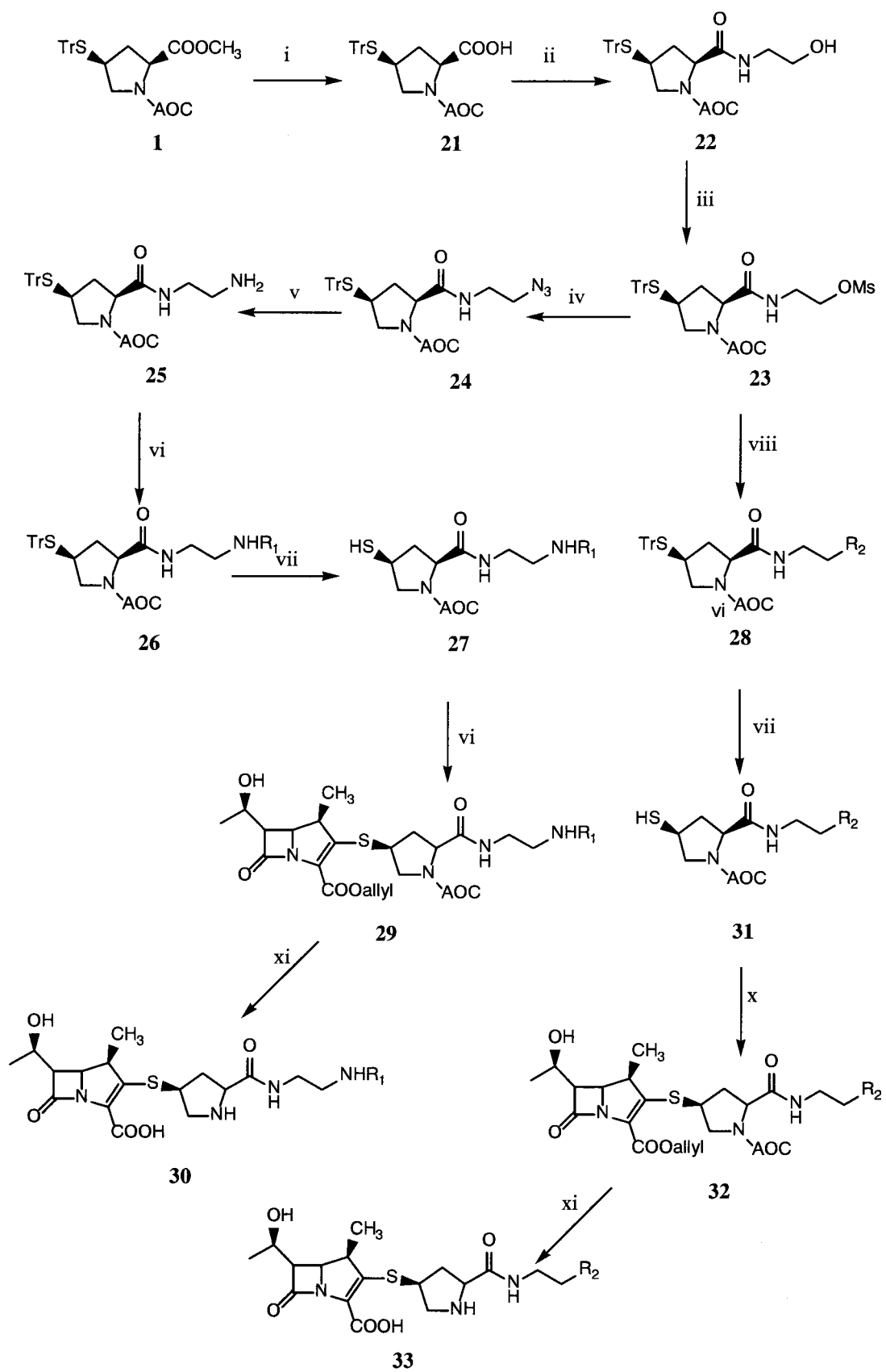


R= a) Allyloxycarbonyl b) COCH₃ c) CO-
d) COOCH₃ e) CONH₂ f) CONHCH₃ g) CON(CH₃)₂
h) NHCH₂CH₂OH i) 
j) SO₂N(CH₃)₂ k) SO₂NH₂

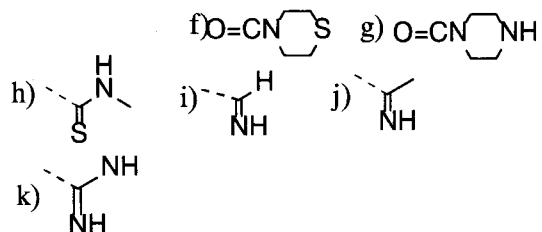
i) MsCl, TEA, CH₂Cl₂ ii) TrSH, NaH, DMF iii) LiBH₄, EtOH iv) MsCl, TEA, CH₂Cl₂
v) NaCN, DMSO vi) NH₂OH.HCl, EtOH vii) RCOCl, TEA or RSO₂Cl, TEA, CH₂Cl₂
viii) TFA, Et₃SiH, CH₂Cl₂ vi) Diisopropylethylamine, **18a-k** x) Pd(OH)₂/C, H₂

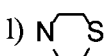

3. 아미노에틸카바모일이 치환된 카바페넴 유도체 합성

티올 유도체의 제조 방법은, 4-hydroxy-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine-2-carboxylic methyl ester **1**를 염기성 가수분해하여 화합물 **2**를 얻어 ethanolamine과 반응시켜 화합물 **3**을 얻었으며, 화합물 **3**을 mesylation 하여 화합물 **4**를 합성하고 소듐 아지이드를 DMF 용매하에 반응시켜 화합물 **5**를 얻었다. 화합물 **5**를 triphenylphosphine를 이용한 reduction으로 화합물 **6**을 합성하였으며 해당 acyl halide(R1기를 가진 화합물)를 치환하여 화합물 **7**를 합성하였다. 화합물 **7**을 trifluoroacetic acid, triethyl silane를 이용한 deprotection으로 화합물 **8**를 합성하였다. 화합물 **3**을 thiomorpholine과 piperazine를 반응시켜 화합물 **9**를 얻어 trifluoroacetic acid, triethyl silane를 이용한 deprotection으로 화합물 **10**을 합성하였으며 최종화합물인 1 β -methyl-2-thio계 carbapenem 유도체 **12, 14**는 앞에서 최종합성 방법과 같은 반응과정을 통해 제조할 수 있다.



R₁=a)H b) SO₂CH₃ c) (CH₃)₂NSO₂ d) (CH₃)₂NCO



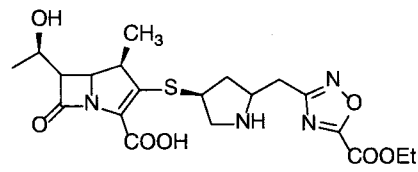
R₂= l)  m) 

i) 4*N*-NaOH, MeOH ii) Ethyl chloroformate, TEA, CH₂Cl₂ iii) MsCl, TEA, CH₂Cl₂
 CH₃CN vi) NaN₃, DMSO v) PPh₃, H₂O, THF vi) Corresponding chloride, TEA,
 CH₂Cl₂ or corresponding imitate, EtOH or 1) *p*-Nitrophenyl chloroformate, TEA,
 CH₂Cl₂ 2) R-NH₂, EtOH or thiomorpholine or piperazine, CH₃CN
 vii) Trifluoroacetic acid, Triethyl silane, CH₂Cl₂ viii) Thiomorpholine or Piperazine,
 CH₃CN vi) Diisopropylethylamine, **27** x) Diisopropylethylamine, **31** xi) Pd(OH)₂, H₂

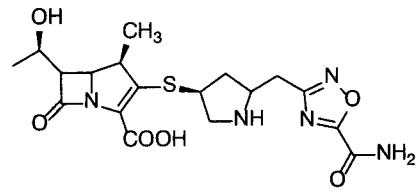
4. 연구결과

본 연구에서는 카바페넴 모핵에 옥사디아아졸, 아미노옥심 및 아미노에틸카르바모일이 치환된 카바페넴 유도체를 합성 하였고 합성한 카바페넴 유도체는 그림 1-3에 나타내었고 이화합물의 MIC를 agar dilution 방법으로 시험 하여 *in vitro* 약효 검색을 수행하였다 (Table 1-7).

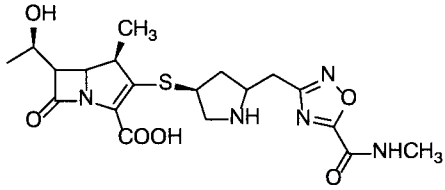
In vitro 약효시험 결과 6개의 Lead 화합물 (KJO-02-22, KJO-02-23, KJO-02-28, KJO-02-68, KJO-02-69 및 KJO-02-70)을 얻었으며 이는 20개 표준균주에 대한 MIC 결과 Lead 화합물 3종 모두 비교물질 meropenem, imipenem에 비해 녹농균을 제외한 모든 균주에 대해 우수한 약효를 나타내었다. 화합물 KJO-02-74는 MRSA에 뛰어난 효과를 보여주었다.



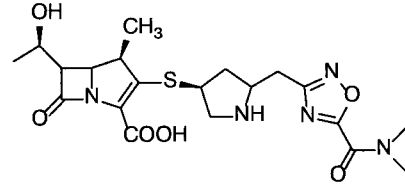
KJO-02-01



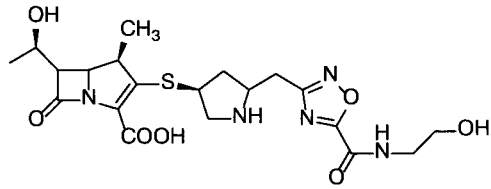
KJO-02-02



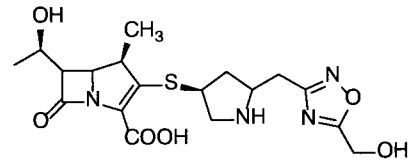
KJO-02-03



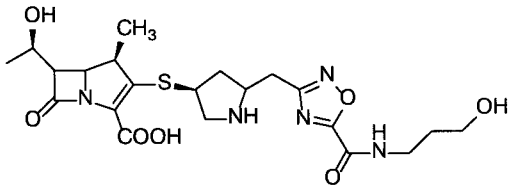
KJO-02-04



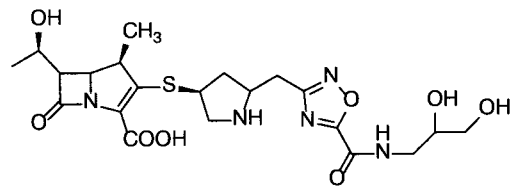
KJO-02-05



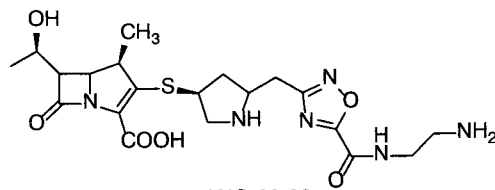
KJO-02-06



KJO-02-07

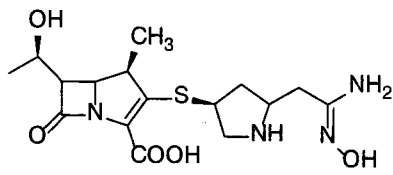


KJO-02-08

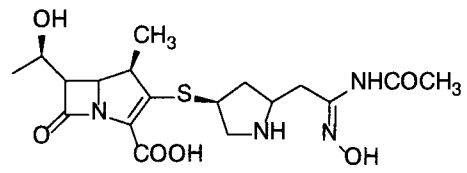


KJO-02-09

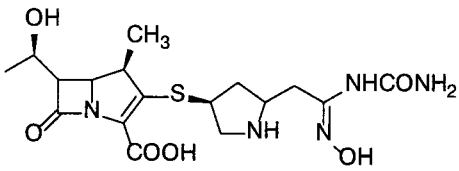
그림 1. 옥사디아아졸고리가 치환된 카바페넴 유도체들



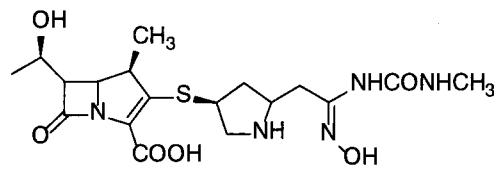
KJO-02-21



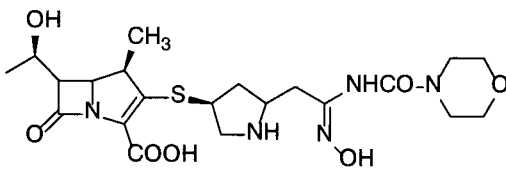
KJO-02-24



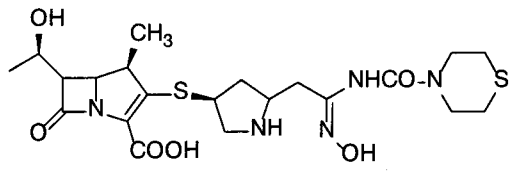
KJO-02-25



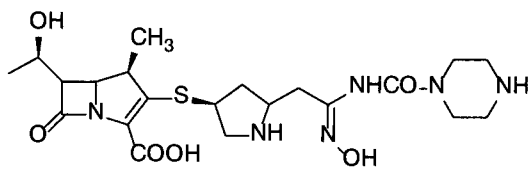
KJO-02-27



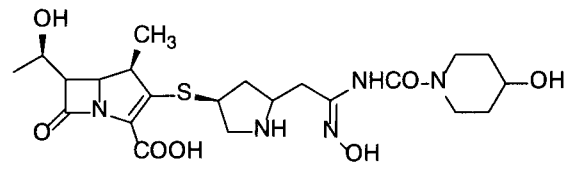
KJO-02-33



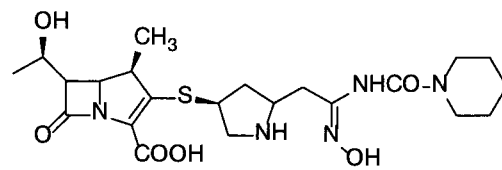
KJO-02-36



KJO-02-37



KJO-02-38



KJO-02-39

그림 2. 아미노옥심이 치환된 카바페넴 유도체들

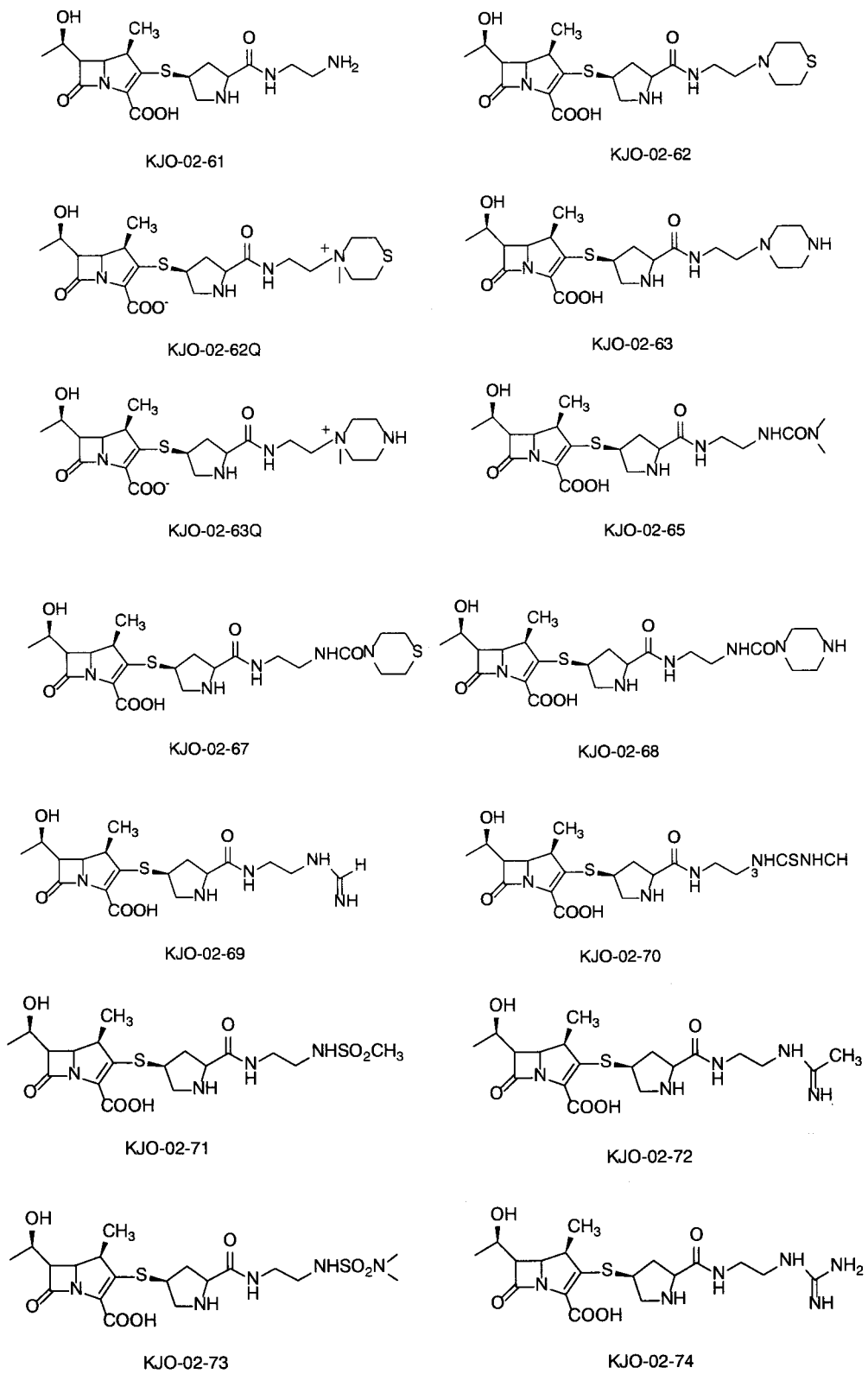


그림 3. 아미노에틸카바모일이 치환된 카바페넴 유도체 합성

Table 1. 옥사디아졸이 치환된 카바페넴 유도체의 MIC data

STRAINS		Minimal Inhibitory Concentration(µg/mL)					
		KJO-02 -01	KJO-02 -02	KJO-02 -03	KJO-02 -04	KJO-02 -05	Imi- penem
1	<i>Streptococcus pyogenes</i> 308A	0.013	0.004	<0.002	<0.002	0.013	0.004
2	<i>Streptococcus pyogenes</i> 77A	0.013	0.007	0.007	0.013	0.025	0.004
3	<i>Streptococcus faecium</i> MD8b	12.50	6.250	6.250	25.0	6.250	1,563
4	<i>Staphylococcus aureus</i> SG511	0.098	0.049	0.049	0.391	0.195	0.013
5	<i>Staphylococcus aureus</i> 285	0.195	0.195	0.098	0.781	0.781	0.013
6	<i>Staphylococcus aureus</i> 503	0.098	0.025	0.025	0.195	0.098	0.013
7	<i>Escherichia coli</i> 055	0.025	0.098	0.098	0.391	0.098	0.098
8	<i>Escherichia coli</i> DCO	0.049	0.098	0.098	0.781	0.391	0.098
9	<i>Escherichia coli</i> DC2	0.049	0.195	0.098	0.781	0.781	0.098
10	<i>Escherichia coli</i> TEM	0.025	0.098	0.781	0.195	0.049	0.195
11	<i>Escherichia coli</i> 1507E	0.025	0.098	0.098	0.391	0.195	0.195
12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 9027	1.563	6.250	6.250	100.0	50.0	0.781
13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1592E	1.563	12.5	6.250	100.0	50.0	1,563
14	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1771	3.125	12.5	3.125	100.0	50.0	0.781
15	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1771M	0.781	1.563	0.781	6.250	1.563	0.098
16	<i>Salmonella typhimurium</i>	0.098	0.195	0.195	0.781	0.391	0.781
17	<i>Klebsiella oxytoca</i> 1082E	0.098	0.781	0.098	3.125	0.781	0.391
18	<i>Klebsiella aerogenes</i> 1522E	0.049	0.195	0.195	0.781	0.391	0.391
19	<i>Enterobacter cloacae</i> P99	0.098	0.391	0.781	3.125	1.563	0.195
20	<i>Enterobacter cloacae</i> 1321E	0.025	0.195	0.098	0.391	0.098	0.098

Table 2. 옥사디아졸이 치환된 카바페넴 유도체의 MIC data

STRAINS		Minimal Inhibitory Concentration($\mu\text{g/mL}$)					
		KJO-02-06	KJO-02-07	KJO-02-08	KJO-02-09	Mero-penem	Imi-penem
1	<i>Streptococcus pyogenes</i> 308A	0.004	0.025	0.049	0.098	0.013	0.004
2	<i>Streptococcus pyogenes</i> 77A	0.007	0.025	0.049	0.049	0.007	0.004
3	<i>Streptococcus faecium</i> MD8b	6.250	50.0	50.0	50.0	6.250	1,563
4	<i>Staphylococcus aureus</i> SG511	0.098	0.391	0.391	0.781	0.098	0.013
5	<i>Staphylococcus aureus</i> 285	0.195	0.781	0.781	1.563	0.195	0.013
6	<i>Staphylococcus aureus</i> 503	0.049	0.195	0.195	0.391	0.049	0.013
7	<i>Escherichia coli</i> 055	0.049	0.195	0.195	0.391	0.013	0.098
8	<i>Escherichia coli</i> DCO	0.098	0.391	0.391	0.781	0.025	0.098
9	<i>Escherichia coli</i> DC2	0.098	0.781	0.391	0.781	0.025	0.098
10	<i>Escherichia coli</i> TEM	0.049	0.391	0.391	0.781	0.025	0.195
11	<i>Escherichia coli</i> 1507E	0.049	0.391	0.391	0.781	0.025	0.195
12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 9027	3.125	100.0	50.0	100.0	0.195	0.781
13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1592E	3.125	100.0	50.0	100.0	0.098	1,563
14	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1771	3.125	100.0	100.0	100.0	0.391	0.781
15	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1771M	0.781	0.781	3.125	3.125	0.098	0.098
16	<i>Salmonella typhimurium</i>	0.195	0.781	0.781	1.563	0.049	0.781
17	<i>Klebsiella oxytoca</i> 1082E	0.195	3.125	1.563	3.125	0.049	0.391
18	<i>Klebsiella aerogenes</i> 1522E	0.098	0.781	0.781	1.563	0.049	0.391
19	<i>Enterobacter cloacae</i> P99	0.391	3.125	0.781	3.125	0.025	0.195
20	<i>Enterobacter cloacae</i> 1321E	0.098	0.391	0.391	1.563	0.025	0.098

Table 3. 아미노 옥심이 치환된 카바페넴 유도체의 MIC data

STRAINS		Minimal Inhibitory Concentration($\mu\text{g/mL}$)					
		KJO-02-21	KJO-02-24	KJO-02-25	KJO-02-27	KJO-02-33	Imi-penem
1	<i>Streptococcus pyogenes</i> 308A	0.013	0.007	0.013	0.007	0.007	0.004
2	<i>Streptococcus pyogenes</i> 77A	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.004
3	<i>Streptococcus faecium</i> MD8b	6.250	6.250	3.125	6.250	3.125	1,563
4	<i>Staphylococcus aureus</i> SG511	0.049	0.049	0.049	0.049	0.049	0.013
5	<i>Staphylococcus aureus</i> 285	0.098	0.098	0.098	0.098	0.098	0.013
6	<i>Staphylococcus aureus</i> 503	0.049	0.025	0.025	0.025	0.025	0.013
7	<i>Escherichia coli</i> 055	0.049	0.098	0.098	0.049	0.049	0.098
8	<i>Escherichia coli</i> DCO	0.098	0.098	0.098	0.098	0.098	0.098
9	<i>Escherichia coli</i> DC2	0.098	0.195	0.098	0.195	0.098	0.098
10	<i>Escherichia coli</i> TEM	0.098	0.098	0.098	0.098	0.098	0.195
11	<i>Escherichia coli</i> 1507E	0.098	0.098	0.098	0.098	0.098	0.195
12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 9027	1.563	0.781	1.563	1.563	1.563	0.781
13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1592E	3.125	1.563	1.563	1.563	1.563	1,563
14	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1771	3.125	1.563	1.563	1.563	3.125	0.781
15	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1771M	0.391	0.391	0.391	0.391	0.391	0.098
16	<i>Salmonella typhimurium</i>	0.195	0.195	0.195	0.195	0.195	0.781
17	<i>Klebsiella oxytoca</i> 1082E	0.391	0.391	0.391	0.391	0.391	0.391
18	<i>Klebsiella aerogenes</i> 1522E	0.098	0.098	0.195	0.781	0.391	0.391
19	<i>Enterobacter cloacae</i> P99	0.195	0.391	0.098	0.098	0.195	0.195
20	<i>Enterobacter cloacae</i> 1321E	0.098	0.098	0.195	0.195	0.195	0.098

Table 4. 아미노 옥심이 치환된 카바페넴 유도체의 MIC data

STRAINS		Minimal Inhibitory Concentration($\mu\text{g/mL}$)					
		KJO-02-36	KJO-02-37	KJO-02-38	KJO-02-39	Mero-penem	Imi-penem
1	<i>Streptococcus pyogenes</i> 308A	0.013	0.007	0.007	0.007	0.013	0.004
2	<i>Streptococcus pyogenes</i> 77A	0.007	0.004	0.004	0.004	0.007	0.004
3	<i>Streptococcus faecium</i> MD8b	6.250	3.125	3.125	3.125	6.250	1,563
4	<i>Staphylococcus aureus</i> SG511	0.049	0.025	0.049	0.049	0.098	0.013
5	<i>Staphylococcus aureus</i> 285	0.098	0.049	0.098	0.098	0.195	0.013
6	<i>Staphylococcus aureus</i> 503	0.025	0.013	0.025	0.025	0.049	0.013
7	<i>Escherichia coli</i> 055	0.049	0.025	0.025	0.049	0.013	0.098
8	<i>Escherichia coli</i> DCO	0.098	0.049	0.098	0.098	0.025	0.098
9	<i>Escherichia coli</i> DC2	0.195	0.098	0.195	0.098	0.025	0.098
10	<i>Escherichia coli</i> TEM	0.098	0.049	0.049	0.098	0.025	0.195
11	<i>Escherichia coli</i> 1507E	0.098	0.049	0.049	0.049	0.025	0.195
12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 9027	0.781	0.781	0.781	0.781	0.195	0.781
13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1592E	1.563	0.781	1.563	1.563	0.098	1,563
14	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1771	1.563	1.563	1.563	1.563	0.391	0.781
15	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1771M	0.391	0.195	0.195	0.391	0.098	0.098
16	<i>Salmonella typhimurium</i>	0.195	0.098	0.098	0.195	0.049	0.781
17	<i>Klebsiella oxytoca</i> 1082E	0.195	0.391	0.391	0.391	0.049	0.391
18	<i>Klebsiella aerogenes</i> 1522E	0.195	0.098	0.098	0.195	0.049	0.391
19	<i>Enterobacter cloacae</i> P99	0.195	0.195	0.195	0.098	0.025	0.195
20	<i>Enterobacter cloacae</i> 1321E	0.098	0.098	0.098	0.195	0.025	0.098

Table 5. 아미노에틸카바모일이 치환된 카바페넴 유도체의 MIC data

STRAINS		Minimal Inhibitory Concentration($\mu\text{g/mL}$)					
		KJO-02-61	KJO-02-62	KJO-02-62Q	KJO-02-63	KJO-02-63Q	Imi-penem
1	<i>Streptococcus pyogenes</i> 308A	0.098	0.025	0.013	0.013	0.049	0.004
2	<i>Streptococcus pyogenes</i> 77A	0.195	0.049	0.025	0.049	0.098	0.004
3	<i>Streptococcus faecium</i> MD8b	50.0	6.250	3.125	3.125	6.250	1,563
4	<i>Staphylococcus aureus</i> SG511	0.195	0.098	0.098	0.049	0.098	0.013
5	<i>Staphylococcus aureus</i> 285	0.391	0.195	0.195	0.195	0.195	0.013
6	<i>Staphylococcus aureus</i> 503	0.098	0.098	0.049	0.049	0.098	0.013
7	<i>Escherichia coli</i> 055	0.025	0.025	0.049	0.013	0.049	0.098
8	<i>Escherichia coli</i> DCO	0.098	0.049	0.098	0.049	0.195	0.098
9	<i>Escherichia coli</i> DC2	0.049	0.025	0.098	0.025	0.195	0.098
10	<i>Escherichia coli</i> TEM	0.049	0.049	0.049	0.049	0.098	0.195
11	<i>Escherichia coli</i> 1507E	0.049	0.049	0.049	0.049	0.098	0.195
12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 9027	25.0	6.250	1.563	0.781	1.563	0.781
13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1592E	25.0	6.250	1.563	0.391	3.125	1,563
14	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1771	50.0	12.50	3.125	1.563	6.250	0.781
15	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1771M	1.563	0.391	0.391	0.195	0.781	0.098
16	<i>Salmonella typhimurium</i>	0.098	0.195	0.098	0.098	0.195	0.781
17	<i>Klebsiella oxytoca</i> 1082E	0.391	0.391	0.195	0.195	0.391	0.391
18	<i>Klebsiella aerogenes</i> 1522E	0.098	0.098	0.098	0.098	0.195	0.391
19	<i>Enterobacter cloacae</i> P99	0.391	0.391	0.098	0.049	0.391	0.195
20	<i>Enterobacter cloacae</i> 1321E	0.049	0.098	0.049	0.025	0.098	0.098

Table 6. 아미노에틸카바모일이 치환된 카바페넴 유도체의 MIC data

STRAINS		Minimal Inhibitory Concentration($\mu\text{g/mL}$)					
		KJO-02-65	KJO-02-67	KJO-02-68	KJO-02-69	KJO-02-70	Imi-penem
1	<i>Streptococcus pyogenes</i> 308A	0.013	0.025	0.013	0.195	0.049	0.004
2	<i>Streptococcus pyogenes</i> 77A	0.007	0.013	0.025	0.391	0.098	0.004
3	<i>Streptococcus faecium</i> MD8b	6.250	6.250	3.125	3.125	6.250	1,563
4	<i>Staphylococcus aureus</i> SG511	0.195	0.195	0.098	0.098	0.098	0.013
5	<i>Staphylococcus aureus</i> 285	0.391	0.391	0.195	0.195	0.195	0.013
6	<i>Staphylococcus aureus</i> 503	0.195	0.195	0.049	0.098	0.098	0.013
7	<i>Escherichia coli</i> 055	0.025	0.049	0.013	0.007	0.025	0.098
8	<i>Escherichia coli</i> DCO	0.049	0.049	0.025	0.013	0.049	0.098
9	<i>Escherichia coli</i> DC2	0.049	0.049	0.025	0.013	0.049	0.098
10	<i>Escherichia coli</i> TEM	0.025	0.049	0.025	0.013	0.025	0.195
11	<i>Escherichia coli</i> 1507E	0.025	0.049	0.025	0.013	0.025	0.195
12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 9027	3.125	6.250	0.781	0.781	0.781	0.781
13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1592E	3.125	25.00	0.781	0.781	0.781	1,563
14	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1771	6.250	50.00	1.563	1.563	6.250	0.781
15	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1771M	0.781	1.563	0.195	0.195	0.391	0.098
16	<i>Salmonella typhimurium</i>	0.098	0.098	0.049	0.049	0.049	0.781
17	<i>Klebsiella oxytoca</i> 1082E	0.195	0.391	0.098	0.098	0.098	0.391
18	<i>Klebsiella aerogenes</i> 1522E	0.049	0.098	0.049	0.049	0.049	0.391
19	<i>Enterobacter cloacae</i> P99	0.098	0.391	0.049	0.049	0.049	0.195
20	<i>Enterobacter cloacae</i> 1321E	0.025	0.025	0.025	0.013	0.025	0.098

Table 7. 아미노에틸카바모일이 치환된 카바페넴 유도체의 MIC data

STRAINS		Minimal Inhibitory Concentration($\mu\text{g/mL}$)					
		KJO-02-71	KJO-02-72	KJO-02-73	KJO-02-74	Mero-penem	Imi-penem
1	<i>Streptococcus pyogenes</i> 308A	0.013	0.098	0.025	0.013	0.013	0.004
2	<i>Streptococcus pyogenes</i> 77A	0.007	0.195	0.049	0.025	0.007	0.004
3	<i>Streptococcus faecium</i> MD8b	12.50	6.250	3.125	1.563	6.250	1,563
4	<i>Staphylococcus aureus</i> SG511	0.391	0.098	0.098	0.025	0.098	0.013
5	<i>Staphylococcus aureus</i> 285	0.781	0.195	0.195	0.049	0.195	0.013
6	<i>Staphylococcus aureus</i> 503	0.195	0.049	0.049	0.013	0.049	0.013
7	<i>Escherichia coli</i> 055	0.025	0.049	0.013	0.025	0.013	0.098
8	<i>Escherichia coli</i> DCO	0.049	0.098	0.049	0.049	0.025	0.098
9	<i>Escherichia coli</i> DC2	0.049	0.195	0.013	0.049	0.025	0.098
10	<i>Escherichia coli</i> TEM	0.049	0.098	0.013	0.049	0.025	0.195
11	<i>Escherichia coli</i> 1507E	0.049	0.098	0.013	0.025	0.025	0.195
12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 9027	3.125	0.781	3.125	0.391	0.195	0.781
13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1592E	1.563	0.781	1.563	0.391	0.098	1,563
14	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1771	6.250	3.125	6.250	0.781	0.391	0.781
15	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1771M	0.781	0.391	0.391	0.195	0.098	0.098
16	<i>Salmonella typhimurium</i>	0.098	0.195	0.025	0.195	0.049	0.781
17	<i>Klebsiella oxytoca</i> 1082E	0.195	0.391	0.049	0.195	0.049	0.391
18	<i>Klebsiella aerogenes</i> 1522E	0.098	0.195	0.025	0.195	0.049	0.391
19	<i>Enterobacter cloacae</i> P99	0.195	0.195	0.049	0.049	0.025	0.195
20	<i>Enterobacter cloacae</i> 1321E	0.049	0.098	0.013	0.025	0.025	0.098

제 2 절 실험 내용

PART A

(2S,4R)-4-Hydroxy-2-methoxycarbonylpyrrolidine hydrochloride (2)

trans-4-Hydroxy-*L*-proline 1 100 g(760 mmol)을 MeOH 1L에 용해하고 0 °C에서 acetyl chloride 81 ml (1140 ml, 1.5 eq)를 서서히 적가하였다. 약 8시간 가량 환류 교반한후 용매를 반정도 감압농축한 다음 반응 농축액에 diethylether를 가해 석출 시킨 후 여과하여 화합물 2 135 g (98%)를 얻었다.

(2S,4R)-4-Hydroxy-1-*t*-butoxycarbonyl-2-methoxycarbonylpyrrolidine (3)

화합물 2 69.2 g (380 mmol)를 무수 CH₂Cl₂에 용해한 후 TEA 158.4 ml (1.35 mmol, 3 eq)를 천천히 적가하고 0 °C에서 무수 CH₂Cl₂ 200 ml에 Di-*tert*-butyl dicarbonate 100 g (0.46 mmol, 1.2 eq)을 용해한 것을 서서히 적가하였다. 실온으로 올린 후 2시간 동안 반응이 종결되면 교반하여 용매를 감압 증류하여 제거한 후 EtOAc와 물로 추출하고 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시킨후 여과하고 용매를 감압 증류하여 화합물 3 65.6 g (70%)을 얻었다: pale white oil: ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.40, 1.45 (s, 9H, rotamer), 2.04~2.09 (m, 1H), 2.26~2.89 (m, 1H), 3.55~3.64 (m, 2H), 3.72 (s, 3H), 4.36~4.47 (m, 2H).

(2S,4R)-4-*t*-Butyldimethylsilyloxy-1-*t*-butoxycarbonyl-2-methoxycarbonylpyrrolidine (4)

화합물 3 65.61 g (270 mmol)을 얼음 중탕하에서 DMF에 용해한 후 imidazole 23.9 g (351 mmol, 1.3 eq)을 적가한 후 *tert*-butyldimethyl chlorosilane을 적가한다. 실온으로 올린 후 2시간 가량 교반하여 반응이 종결하면 DMF의 5배 가량의 물과 EtOAc로 추출하고 유기 용매층을 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과하고 용매를 감압 증류하여 화합물 4 87.3 g (90%)을 얻었다: pale yellow oil: ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.05 (s, 6H), 0.86 (s, 9H), 1.40, 1.45 (s, 9H, rotamer), 1.55~1.59 (m, 1H), 1.89~1.93 (m, 1H), 3.50~3.64 (m, 2H), 3.74 (s, 3H), 4.09~4.26 (m, 2H).

(2S,4R)-4-*t*-Butyldimethylsilyloxy-1-*t*-butoxycarbonyl-2-hydroxymethylpyrrolidine (5)

화합물 4 87.5 g (240 mmol)을 질소기류하에서 무수 THF 350 ml에 용해시킨다. 얼음중탕하에서 lithium chloride anhydrous 20.35 g (480 mmol, 2 eq)와 sodium borohydride 18.16 g (480 mmol, 2 eq)를 적가시킨 후 EtOH 700 ml를 서

서히 떨어뜨린다. 실온으로 올려 약 8시간 가량 교반시킨 후 반응이 종결되면 불용성 물질을 여과하고 THF와 ethyl alcohol을 감압 증류하여 제거한 후 citric acid를 가한 뒤 물과 EtOAc로 추출하여 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시킨다. 이 용매를 여과하고 감압 증류하여 화합물 5 67.72 g (85%)을 얻었다: white oil: ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.05 (s, 6H), 0.86 (s, 9H), 1.46 (s, 9H), 1.52~1.60 (m, 1H), 1.87~1.97 (m, 2H), 3.34~3.45 (m, 2H), 3.49~3.69 (m, 2H), 4.08~4.27 (m, 2H).

(2S,4R)-4-*t*-Butyldimethylsilyloxy-1-*t*-butoxycarbonyl-2-formylpyrrolidine (6)

화합물 5 67.72 g (200 mmol)을 $-10\text{ }^\circ\text{C}$ 에서 무수 CH_2Cl_2 400 ml에 TEA 83.6 ml (10.6 mmol, 3 eq) 적가한 것을 용해한 후 DMSO 400 ml에 Sulfur-trioxide-pyridine 95.5 g (600 mmol, 3 eq)을 용해한 것을 적가한다. 실온으로 20분간 교반하여 용매를 감압 증류하여 제거시킨 후 DMSO의 5배 정도의 물과 EtOAc로 추출하여 유기층을 소금물로 닦아준 다음 무수 황산나트륨으로 건조시켜 여과한 후 용매를 감압 증류하여 화합물 6 52.7 g (80%)를 얻었다: pale yellow oil: ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.05 (s, 6H), 0.87 (s, 9H), 1.40, 1.45 (s, 9H, rotamer), 1.91~2.03 (m, 2H), 3.37~3.54 (m, 2H), 4.21~4.37 (m, 2H) 9.43, 9.56 (s, 1H).

(2S,4R)-4-*t*-Butyldimethylsilyloxy-1-*t*-butoxycarbonyl-2-hydroximidopyrrolidine (7)

화합물 6 52.71 g (0.16 mol)를 EtOH 1.2 L에 용해한 후 hydroxyamine hydrochloride 12 g (0.17 mol, 1.07 eq)을 적가하여 교반한 후 pyridine 120 ml를 적가한다. 상온에서 18시간 동안 교반하여 반응이 정결하면 용매를 감압 증류하여 제거한 후 물을 넣고 2시간 동안 교반한다. 결정이 생기면 여과하여 물로 씻어주면 화합물 7 43 g (78%)을 얻는다: white powder: ^1H NMR (CDCl_3) δ trans 0.06 (s, 6H), 0.90 (s, 9H), 1.45 (d, 9H), 1.75~1.89 (m, 1H), 2.23~2.34 (m, 1H), 3.33~3.45 (m, 2H), 4.34~4.46 (m, 2H), 6.68~6.76 (m, 1H), 7.39~7.72 (m, 1H) cis 0.06 (s, 6H), 0.86 (d, 9H), 1.45 (d, 9H), 1.74~1.81 (m, 1H), 2.22~2.30 (m, 1H), 3.35~3.44 (m, 2H), 4.31~4.36 (m, 2H), 6.67~6.74 (m, 1H), 7.30~7.43 (m, 1H).

(2S,4R)-4-*t*-Butyldimethylsilyloxy-1-*t*-butoxycarbonyl-2-(5-methoxycarbonyl-isoxazol-3-yl)pyrrolidine (8)

화합물 7 10 g (29 mmol)을 DMF 200 ml에 용해한 후 질소기류하에서 N-chlorosuccinimide 4.26 g (32 mmol, 1.1 eq)을 넣고 5-10분간 교반한다. 그 후 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 에서 30분간 교반한 후 $2\text{ }^\circ\text{C}$ 로 냉각시킨다. 여기에 methyl propiolate 12.9 ml (145 mmol, 5 eq)를 적가한 다음 DMF 40 ml에 용해되어 있는 TEA 4.46 ml (32 mmol, 1.1 eq)를 약 30분간에 걸쳐 서서히 적가한다. 그리고 $2\text{ }^\circ\text{C}$ 에서 30분간 교반 후 실온에서 2시간 동안 교반한다. 반응이 끝나면 DMF의 5배 정도의 물과 EtOAc

로 추출하고 유기층을 소금물로 닦아내고 무수 황산나트륨으로 건조하여 여과한 후 감압 증류하여 용매를 제거한다. 그리고 column chromatography로 정제하여 화합물 **8**을 7.5 g (60.6%) 얻었다: pale yellow oil: ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.06 (s, 6H), 0.82 (s, 9H), 1.29, 1.43 (s, 9H, rotamer), 2.03~2.28 (m, 2H), 3.43~3.55 (m, 2H), 3.94 (s, 3H), 4.39~4.45 (m, 1H), 5.04~5.11 (m, 1H), 6.82, 6.94 (s, 1H).

(2S,4R)-4-*t*-Butyldimethylsilyloxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-methoxycarbonyl-isoxazol-3-yl)pyrrolidine (9)

화합물 **8** 6.34 g (14.8 mmol)을 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{TFA}=1/1$ 에 4 °C에서 1시간 동안 교반한다. 반응이 끝나면 용매를 감압 증류하여 제거한 다음 여기에 THF를 넣어 용해시킨다. 얼음 중탕하에서 TEA 20 ml (143.6 mmol, 9.8 eq)를 넣고 allyl chloroformate 1.74 ml (16.3 mmol, 1.1 eq)를 넣는다. 실온에서 1.5시간 동안 교반 한 후 반응이 종결되면 용매를 감압 증류 한 다음 물과 EtOAc로 추출하여 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조한 다음 여과한 후 감압증류한다. 그리고 column chromatography법으로 정제하여 화합물 **9** 4.3 g (70%)를 얻었다: pale yellow oil: ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.07 (s, 6H), 0.84 (s, 9H), 2.28~2.33 (m, 2H), 3.48~3.62 (m, 2H), 3.93 (s, 3H), 4.50~4.61 (m, 3H), 5.10~5.31 (m, 3H), 5.71~5.93 (m, 1H), 6.83, 6.97 (s, 1H, rotamer).

(2S,4R)-4-*t*-Butyldimethylsilyloxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-hydroxycarbonyl-isoxazol-3-yl)pyrrolidine (10)

화합물 **9** 4.3 g (10.4 mmol)를 MeOH에 용해시킨 후 얼음 중탕하에서 claisen alkali 8.5 g을 천천히 적가한다. 약 1시간 정도 교반후 반응이 끝나면 citric acid로 산성화시킨 다음 감압 증류하여 용매를 제거 한 후 물과 EtOAc로 추출하여 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조하여 여과한 후 감압 증류하여 제거시키고 column chromatography법으로 정제하여 화합물 **10** 4.04 g (98%)을 얻었다: pale yellow oil: ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.07 (s, 6H), 0.86 (s, 9H), 2.05~2.30 (m, 2H), 3.50~3.63 (m, 2H), 4.52~4.65 (m, 3H), 5.10~5.32 (m, 3H), 5.72~5.92 (m, 1H), 6.90, 6.96 (d, 1H), 8.65 (bs, 1H).

(2S,4R)-4-*t*-Butyldimethylsilyloxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-allyloxycarbonyl-isoxazol-3-yl)pyrrolidine (11)

화합물 **10** 4.04 g (10.2 mmol)을 80 ml의 DMF에 용해시킨 후 질소 기류하에서 TEA 2.6 ml (18.3 mmol, 1.8 eq)를 적가한 후 allyl bromide 1.94 ml (22.4 ml, 2.2 eq)를 적가한다. 65 °C에서 약 1시간 정도 교반 후 반응이 끝나면 DMF의 약 5 배 정도의 물과 EtOAc로 추출하여 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조하여 여과한

후 감압 증류한다. 그리고 column chromatography법으로 정제하여 화합물 **11** 3.38 g (76%)를 얻었다: pale yellow oil: ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.07 (s, 6H), 0.84 (s, 9H), 2.15~2.33 (m, 2H), 3.51~3.63 (m, 2H), 4.46~4.60 (m, 3H), 4.82 (d, 2H), 5.10~5.45 (m, 5H), 5.74~5.94 (m, 2H), 6.85, 6.99 (s, 1H).

(2S,4R)-4-*t*-Butyldimethylsilyloxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-hydroxymethyl-isoxazol-3-yl)pyrrolidine (12)

화합물 **9** 9.8 g (24 mmol)을 질소기류하에서 무수 THF 35 ml에 용해시킨다. 얼음 중탕하에서 lithium chloride anhydrous 2.0 g (48 mmol, 2 eq)와 sodium borohydride 1.8 g (48 mmol, 2 eq)를 적가시킨 후 MeOH 70 ml를 서서히 떨어뜨린다. 실온으로 올려 약 8시간 가량 교반시킨 후 반응이 종결되면 불용성 물질을 여과하고 THF와 ethyl alcohol을 감압 증류하여 제거한 후 citric acid를 가한 뒤 물과 EtOAc로 추출하여 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시킨다. 이 용매를 여과하고 감압 증류하여 화합물 **12** 8.12 g (85%)를 얻었다: white oil: ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.05 (s, 6H), 0.88 (s, 9H), 2.32 (m, 2H), 3.48~3.61 (m, 2H), 3.94 (s, 2H), 4.52 (m, 3H), 5.09~5.34 (m, 3H), 5.94 (m, 1H), 6.10 (s, 1H).

(2S,4R)-4-*t*-Butyldimethylsilyloxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-methylaminomethyl-isoxazol-3-yl)pyrrolidine (15)

^1H NMR (CDCl_3) δ 0.08 (s, 6H), 0.88 (s, 9H), 2.23 (m, 2H), 2.47 (s, 3H), 3.47~3.67 (m, 2H), 3.84 (s, 2H), 4.49~4.62 (m, 3H), 5.11~5.34 (m, 3H), 5.94 (m, 1H), 6.05~6.18 (d, 1H, $J=41.46$ Hz).

(2S,4R)-4-*t*-Butyldimethylsilyloxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-allyloxycarbonyl-methylaminomethylisoxazol-3-yl)pyrrolidine (17)

^1H NMR (CDCl_3) δ 0.08 (s, 6H), 0.89 (s, 9H), 2.29 (m, 2H), 3.00 (s, 3H), 3.51~3.61 (m, 2H), 4.12~4.63 (m, 7H), 5.11~5.34 (m, 5H), 5.89~5.98 (m, 2H), 6.02 (m, 1H).

(2S,4R)-4-*t*-Butyldimethylsilyloxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-aminomethylisoxazol-3-yl)pyrrolidine (18)

^1H NMR (CDCl_3) δ 0.08 (s, 6H), 0.88 (s, 9H), 2.32 (m, 2H), 3.48~3.61 (m, 2H), 3.94 (s, 2H), 4.52 (m, 3H), 5.09~5.34 (m, 3H), 5.94 (m, 1H), 6.10 (s, 1H).

(2S,4R)-4-*t*-Butyldimethylsilyloxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-allyloxycarbonylamino-methylisoxazol-3-yl)pyrrolidine (19)

¹H NMR (CDCl₃) δ 0.07 (s, 6H), 0.87 (s, 9H), 2.23~2.30 (m, 2H), 3.47~3.59 (m, 2H), 4.43~4.63 (m, 7H), 5.08~5.34 (m, 6H), 5.89~5.98 (m, 2H), 6.19 (m, 1H).

(2S,4R)-4-*t*-Butyldimethylsilyloxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-isopropylcarbonyl-aminomethylisoxazol-3-yl)pyrrolidine (20)

¹H NMR (CDCl₃) δ 0.08 (s, 6H), 0.88 (s, 9H), 1.19 (d, 6H, J=6.9 Hz), 2.27 (m, 1H), 2.42 (m, 1H), 3.48~3.61 (m, 2H), 4.48~4.62 (m, 5H), 5.09~5.34 (m, 3H), 5.94 (m, 1H), 6.10 (d, 1H, J=33 Hz).

(2S,4R)-4-Hydroxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-allyloxycarbonylisoxazol-3-yl)-pyrrolidine (22a)

화합물 11 3.38 g (7.74 mmol)을 무수 THF 80 ml에 용해 시킨 후 얼음 중탕하에서 tetrabutylammonium fluoride 15.5 ml (15.5 mmol, 2 eq)를 적가한다. 0 °C에서 약 1시간 교반 후 반응이 끝나면 용매를 감압 증류하여 제거하고 물과 EtOAc로 추출하여 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조하여 여과한 후 감압증류한다. 그리고 column chromatography로 정제하여 순수한 화합물 22a 1.8 g (72%)를 얻었다: pale white oil: ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.17~2.44 (m, 2H), 3.12 (bs, 1H), 3.62~3.71 (m, 2H), 4.46~4.52 (m, 3H), 4.79 (d, 2H), 5.10~5.42 (m, 5H), 5.69~5.93 (m, 2H), 6.85, 6.95 (s, 1H).

(2S,4R)-4-Hydroxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-allyloxycarbonylmethylaminomethyl isoxazol-3-yl)pyrrolidine (22c)

¹H NMR (CDCl₃) δ 2.36 (m, 2H), 2.65 (m, 2H), 2.99 (s, 3H), 3.63~3.73 (m, 2H), 4.52~4.62 (m, 7H), 5.08~5.36 (m, 5H), 5.75~6.08 (m, 5H), 6.17~6.18 (d, 1H, J=32.9 Hz).

(2S,4R)-4-Hydroxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-dimethylaminomethylisoxazol-3-yl)-pyrrolidine (22d)

¹H NMR (CDCl₃) δ 2.28 (s, 6H), 2.11~2.50 (m, 2H), 3.53 (s, 2H), 3.64 (m, 2H), 4.55 (m, 3H), 5.10~5.31 (m, 3H), 5.72~5.92 (m, 1H), 6.08~6.21 (d, 1H, J=36.12 Hz).

**(2*S*,4*R*)-4-Hydroxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-allyloxycarbonylaminoethyl-
isoxazol-3-yl)pyrrolidine (22e)**

¹H NMR (CDCl₃) δ 2.36 (m, 2H), 2.70 (m, 2H), 4.47 (d, 2H, *J*=6.15 Hz), 4.60 (m, 5H), 5.11~5.35 (m, 6H), 5.88~5.96 (m, 2H), 6.11~6.21 (d, 1H, *J*=30.9 Hz).

**(2*S*,4*R*)-4-Hydroxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-isopropylcarbonylaminoethyl-
isoxazol-3-yl)pyrrolidine (22f)**

¹H NMR (CDCl₃) δ 1.17~1.19 (d, 6H, *J*=6.92 Hz), 2.06 (m, 1H), 2.45 (m, 2H), 3.71 (m, 2H), 4.52 (m, 4H), 5.24 (m, 2H), 5.93 (m, 1H), 6.08~6.18 (d, 1H, *J*=31.4 Hz).

**(2*S*,4*R*)-4-Hydroxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-methylsulfonylaminoethyl-
isoxazol-3-yl)pyrrolidine (22g)**

¹H NMR (CDCl₃) δ 2.22 (m, 1H), 2.37 (m, 1H), 2.94 (s, 3H), 3.65 (s, 2H), 4.39 (m, 2H), 4.52 (m, 3H), 5.09~5.32 (m, 3H), 5.90 (m, 1H), 6.26 (s, 1H).

**(2*S*,4*R*)-4-Methansulfonyloxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-allyloxycarbonylisoxazol-3-
yl)pyrrolidine (23a)**

화합물 **22a** 1.7 g (5.2 mmol)을 무수 CH₂Cl₂ 80 ml에 용해 시킨 후 얼음 증탕 하에서 TEA 0.87 ml (6.24 mmol, 1.2 eq)를 적가한 후 methansulfonyl chloride 0.44 ml (5.7 mmol, 1.1 eq)을 적가한다. 실온에서 1시간 동안 교반한 후 반응이 종결되면 CH₂Cl₂와 물과 추출하여 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조하여 여과한 후 감압 증류하면 화합물 **23a** 1.82 g (87%)을 얻는다: pale yellow oil: ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.50~2.71 (m, 2H), 3.10 (s, 3H), 3.76~3.81 (m, 2H), 4.54~4.60 (m, 2H), 4.83 (d, 2H), 5.15~5.46 (m, 6H), 5.95~6.17 (m, 2H), 6.90, 7.04 (s, 1H).

**(2*S*,4*R*)-4-Methansulfonyloxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-allyloxycarbonylmethyl-
aminomethylisoxazol-3-yl)pyrrolidine (23c)**

¹H NMR (CDCl₃) δ 2.52~2.65 (m, 2H), 3.01 (s, 3H), 3.06 (s, 3H), 3.75~3.80 (m, 1H), 3.97~4.07 (m, 1H), 4.54 (s, 3H), 4.60~4.53 (m, 3H), 5.14~5.35 (m, 6H), 5.91 (m, 1H), 6.20 (d, 1H, *J*=36.57 Hz).

**(2*S*,4*R*)-4-Methansulfonyloxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-dimethylaminoethyl-
isoxazol-3-yl)pyrrolidine (23d)**

¹H NMR (CDCl₃) δ 2.31 (s, 3H), 2.53~2.85 (m, 2H), 3.08 (s, 3H), 3.58 (s, 2H), 3.75~3.80 (m, 1H), 3.97~4.14 (m, 1H), 4.95 (m, 2H), 5.14~5.35 (m, 4H), 5.81~5.91

(m, 1H), 6.20 (d, 1H, $J=45.02$ Hz).

(2S,4R)-4-Methansulfonyloxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-allyloxycarbonylamino-methylisoxazol-3-yl)pyrrolidine (23e)

^1H NMR (CDCl_3) δ 2.49~2.75 (m, 2H), 3.08 (s, 3H), 3.75~3.85 (m, 1H), 3.98~4.01 (m, 1H), 4.47 (d, 1H, $J=6.1$ Hz), 4.60(m, 4H), 5.16~5.35 (m, 7H), 5.89~5.97 (m, 1H), 6.16 (d, 1H, $J=33.78$ Hz).

(2S,4R)-4-Methansulfonyloxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-isopropylcarbonylamino-methylisoxazol-3-yl)pyrrolidine (23f)

^1H NMR (CDCl_3) δ 1.17~1.19 (d, 1H, $J=6.9$ Hz), 2.45 (m, 1H), 2.60 (m, 1H), 2.72 (m, 1H), 3.09 (s, 3H), 3.09 (s, 3H), 3.81 (m, 1H), 3.98~4.14 (m, 1H), 4.53~4.60 (m, 4H), 5.16~5.90 (m, 4H), 5.89 (m, 1H), 6.16 (d, 1H), (d, 1H, $J=33.78$ Hz).

(2S,4R)-4-Methansulfonyloxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-methylsulfonylamino-methylisoxazol-3-yl)pyrrolidine (23g)

^1H NMR (CDCl_3) δ 2.60 (m, 1H), 2.70 (m, 1H), 2.94 (s, 3H), 3.09 (s, 3H), 3.82 (m, 1H), 3.98 (m, 1H), 4.28 (s, 2H), 4.56 (s, 2H), 5.16~5.48 (m, 5H), 5.90 (m, 1H), 6.30 (d, 1H, $J=25.32$ Hz).

(2S,4R)-4-Acetylthio-1-allyloxycarbonyl-2-(5-allyloxycarbonylisoxazol-3-yl)-pyrrolidine (24a)

화합물 **23a** 1.8 g (4.5 mmol)을 무수 CH_3CN 100 ml에 용해시킨 후 질소기류 하에서 potassium thioacetate 1.03 g (9 mmol, 2 eq)을 적가한다. 그리고 약 8시간 가열 환류한다. 반응이 종결하면 물과 EtOAc로 추출하여 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조하여 여과한 후 감압 증류한다. 그리고 column chromatography로 정제하여 순수한 화합물 **24a** 1.2 g (70%)을 얻었다: brown oil: ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.11~2.39 (m, 1H), 2.32 (s, 3H), 2.80~2.91 (m, 1H), 3.41~3.44 (m, 1H), 4.06~4.17 (m, 2H), 4.55~4.60 (m, 2H), 4.85 (d, 2H), 5.13~5.47 (m, 5H), 5.80~6.02 (m, 2H), 6.92, 6.99 (s, 1H).

(2S,4R)-4-Acetylthio-1-allyloxycarbonyl-2-(5-dimethylaminomethylisoxazol-3-yl)pyrrolidine (24d)

^1H NMR (CDCl_3) δ 2.13 (m, 1H), 2.28 (s, 6H), 2.77 (m, 1H), 3.37 (m, 1H), 3.58 (s, 2H), 3.99 (m, 1H), 4.11 (m, 1H), 4.55 (m, 2H), 5.05~5.31 (m, 3H), 5.85

(m, 1H), 6.16 (s, 1H).

(2S,4R)-4-Acetylthio-1-allyloxycarbonyl-2-(5-isopropylcarbamylaminomethyl-isoxazol-3-yl)pyrrolidine (24f)

¹H NMR (CDCl₃) δ 1.16~1.18 (d, 2H, J=6.90 Hz), 2.18 (m, 1H), 2.34 (s, 3H), 2.80 (m, 1H), 2.93 (s, 3H), 3.40 (m, 1H), 4.05 (m, 1H), 4.15 (m, 1H), 4.42 (d, 2H, J=6.09 Hz), 4.55 (m, 2H), 5.05~5.33 (m, 4H), 5.87 (m, 1H), 6.28 (s, 1H).

(2S,4R)-4-Acetylthio-1-allyloxycarbonyl-2-(5-methylsulfonylaminoethyl-isoxazol-3-yl)pyrrolidine (24g)

¹H NMR (CDCl₃) δ 2.18 (m, 1H), 2.34 (s, 3H), 2.78 (m, 1H), 2.94 (s, 3H), 3.42 (m, 1H), 4.05 (m, 1H), 4.15 (m, 1H), 4.28 (s, 2H), 4.56 (s, 2H), 5.06~5.34 (m, 4H), 5.90 (m, 1H), 6.30 (s, 1H).

(2S,4R)-4-Mercapto-1-allyloxycarbonyl-2-(5-allyloxycarbonylisoxazol-3-yl)-pyrrolidine (25a)

화합물 **24a** 0.64 g (1.7 mmol)을 얼음 중탕하에서 allyl alcohol에 용해시킨다. 그리고 여기에 1N sodium thiomethoxide 1.87 ml (1.87 mmol, 1.1 eq)을 천천히 적가한다. 얼음 중탕하에서 30분간 교반한 후 물과 EtOAc로 추출하여 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조하고 여과한 후 감압증류하여 제거하면 화합물 **25a** 0.5 g (86%)을 얻는다.

(2S,4R)-4-Mercapto-1-allyloxycarbonyl-2-(5-allyloxycarbonylmethylamino-methylisoxazol-3-yl)pyrrolidine (25c)

화합물 **24c**를 얼음 중탕하에서 methyl alcohol에 용해시킨다. 그리고 여기에 1N-NaOH (1.1 eq)을 천천히 적가한다. 얼음 중탕하에서 1시간 동안 교반한 후 물과 EtOAc로 추출하여 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조하고 여과한 후 감압증류하여 제거하면 화합물 **25c**를 얻는다.

(2S,4R)-4-Mercapto-1-allyloxycarbonyl-2-(5-dimethylaminomethylisoxazol-3-yl)-pyrrolidine (25d)

25c와 동일한 방법으로 합성

(2S,4R)-4-Mercapto-1-allyloxycarbonyl-2-(5-allyloxycarbonylaminoethyl-isoxazol-3-yl)pyrrolidine (25e)

25c 동일한 방법으로 합성

**(2*S*,4*R*)-4-Mercapto-1-allyloxycarbonyl-2-(5-isopropylcarbonylaminomethyl-
isoxazol-3-yl)pyrrolidine (25f)**

25c 동일한 방법으로 합성

**(2*S*,4*R*)-4-Mercapto-1-allyloxycarbonyl-2-(5-methylsulfonylaminomethylisoxazol-
3-yl)pyrrolidine (25g)**

25c 동일한 방법으로 합성

**(1*R*,5*S*,6*S*)-2-((3*S*,5*S*)-(5-Allyloxycarbonylisoxazol-3-yl)-1-(allyloxycarbonyl)-
pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1*R*)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-
carboxylate (26a)**

카바페넴 엔올포스페이트화합물에 *N,N*-diisopropylethylamine 0.57 ml (3.3 mmol, 1.5 eq)을 가하고 화합물 **25a**를 무수 CH₃CN 에 용해 시킨 것을 느린 속도로 적가한다. 2시간 후에 반응액을 EtOAc와 소금물로 추출한다. 유기층을 취하여 무수 황산나트륨으로 건조하여 여과한 후 감압 증류하고 불순한 화합물을 column chromatography법으로 정제하여 순수한 화합물 **26a** 0.25 g (25%)을 얻는다: pale brown powder: ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.27~1.30 (d, 3H, *J*=6 Hz), 1.37~1.39 (d, 3H, *J*=9 Hz), 2.90 (bs, 1H), 3.27~3.30 (m, 2H), 3.40~3.50 (m, 1H), 3.80 (bs, 1H), 4.11~4.28 (m, 4H), 4.45~4.87 (m, 5H), 5.19~5.48 (m, 8H), 5.79~6.04 (m, 3H), 6.97 (s, 1H)

(1*R*,5*S*,6*S*)-2-((3*S*,5*S*)-(5-allyloxycarbonylmethylaminomethylisoxazol-3-yl)-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1*R*)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylate (26c)

¹H NMR (CDCl₃) δ 1.26~1.29 (d, 3H, *J*=7.25 Hz), 1.35~1.37 (d, 3H, *J*=6.24 Hz), 2.14 (m, 1H), 3.00 (s, 3H), 2.84 (m, 1H), 3.26 (m, 1H), 3.32~3.62 (m, 2H), 3.71 (s, 1H), 4.23~4.26 (m, 2H), 4.56 (s, 3H), 4.63 (m, 2H), 4.72 (m, 2H), 5.09~5.47 (m, 6H), 5.94 (m, 2H), 6.12 (s, 1H).

(1*R*,5*S*,6*S*)-2-((3*S*,5*S*)-(5-dimethylaminomethylisoxazol-3-yl)-1-(allyloxy-carbonyl)pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1*R*)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylate (26d)

¹H NMR (CDCl₃) δ 1.27~1.28 (d, 3H, *J*=7.08 Hz), 1.33~1.36 (d, 3H, *J*=6.18 Hz), 1.18 (m, 1H), 2.32 (s, 6H), 2.84 (m, 1H), 3.26 (m, 1H), 3.96 (m, 2H), 3.62 (s, 2H), 3.81 (m, 1H), 4.26 (m, 2H), 4.51 (m, 1H), 4.72 (m, 1H), 4.84 (m, 1H), 5.09~5.47 (m, 5H), 5.94 (m, 2H), 6.20 (s, 1H).

(1*R*,5*S*,6*S*)-2-((3*S*,5*S*)-(5-Allyloxycarbonylaminoethylisoxazol-3-yl)-1-(allyloxy-carbonyl)pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1*R*)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylate (26e)

¹H NMR (CDCl₃) δ 1.26~1.28 (d, 3H, J=6.84 Hz), 1.33~1.35 (d, 3H, J=6.09 Hz), 2.18 (m, 1H), 2.74(m, 1H), 2.96 (m, 1H), 3.25 (m, 1H), 3.58 (m, 1H), 3.65 (m, 1H), 3.75 (m, 1H), 3.98 (m, 1H), 4.26 (m, 2H), 4.45 (m, 2H), 4.57 (m, 2H), 4.82 (m, 2H), 5.11~5.54 (m, 5H), 5.95 (m, 2H), 6.19 (s, 1H).

(1*R*,5*S*,6*S*)-2-((3*S*,5*S*)-(5-Isopropylcarbonylaminoethylisoxazol-3-yl)-1-(allyloxy-carbonyl)pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1*R*)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylate (26f)

¹H NMR (CDCl₃) δ 1.16~1.18 (d, 3H, J=6.87 Hz), 1.26~1.28 (d, 3H, J=6.84 Hz), 1.33~1.35 (d, 3H, J=6.09 Hz), 2.18 (m, 1H), 2.43 (m, 1H), 2.74(m, 1H), 2.96 (m, 1H), 3.25 (m, 1H), 3.58 (m, 1H), 3.65 (m, 1H), 3.75 (m, 1H), 3.98 (m, 1H), 4.26 (m, 2H), 4.45 (m, 2H), 4.57 (m, 2H), 4.82 (m, 2H), 5.11~5.54 (m, 5H), 5.95 (m, 2H), 6.19 (s, 1H).

(1*R*,5*S*,6*S*)-2-((3*S*,5*S*)-(5-methanesulfonylaminoethylisoxazol-3-yl)-1-(allyloxy-carbonyl)pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1*R*)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylate (26g)

¹H NMR (CDCl₃) δ 1.25~1.27 (d, 3H, J=5.97 Hz), 1.36~1.38 (d, 3H, J=6.00 Hz), 2.18~2.32 (m, 1H), 2.74~2.96 (m, 1H), 2.99 (s, 3H), 3.25 (m, 2H), 3.58 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.98 (m, 1H), 4.26 (m, 2H), 4.45 (m, 2H), 4.57 (m, 2H), 4.82 (m, 2H), 5.16~5.49 (m, 5H), 5.95 (m, 2H), 6.31 (s, 1H).

(1*R*,5*S*,6*S*)-2-((3*S*,5*S*)-(5-Hydroxycarbonylisoxazol-3-yl)-1-pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1*R*)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylic acid (27a)

화합물 **26a** 0.25 g (0.43 mmol)을 질소 기류 하에서 증류 정제된 CH₂Cl₂ 10 ml 에 용해시키고 얼음 증탕하에서 tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0)을 촉매량 가하고 tributyltinhydride 0.38 ml (1.42 mmol, 3.3 eq)를 적가한다. 3시간 후에 반응이 끝나면 2-ethylhexanoic acid-sodium salt 0.11 g (0.65 mmol, 1.5 eq)를 가한 뒤 30분간 교반한다. 그 후 증류수로 추출하여 CH₂Cl₂층은 버리고 증류수층을 취하여 받아 얼려서 동결 건조 시킨다. 동결 건조된 불순한 화합물을 HP-20 Dianion (5% THF 수용액)을 이용하여서 정제한다. 물을 동결 건조로 제거하여 최종 카바페넴인 화합물 **27a** 0.1 g (52%)을 얻는다: brown powder: ¹H NMR (D₂O) δ 1.13 (d, 3H, J=7.2 Hz), 1.19~1.21 (d, 3H, J=6.0 Hz), 1.81~1.85 (m, 1H), 2.75~2.80 (m, 1H),

3.03~3.09 (dd, 1H), 3.31~3.42 (m, 3H), 3.80~3.88 (m, 1H), 4.11~4.17 (m, 2H), 4.39~4.45 (t, 1H), 6.79 (s, 1H).

27b : 0.15 g (56%): colorless powder: ^1H NMR (D_2O) δ 1.09~1.11 (d, 3H, $J=7.2$ Hz), 1.16~1.18 (d, 3H, $J=7.1$ Hz), 1.67~1.72 (m, 1H), 2.62~2.72 (m, 1H), 2.92~2.94 (dd, 1H), 3.22~3.31 (m, 3H), 3.72~3.77 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 4.07~4.14 (m, 2H), 4.29~4.35 (t, 1H), 7.11 (s, 1H).

(1R,5S,6S)-2-((3S,5S)-(5-Methylaminomethylisoxazol-3-yl)-1-pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylic acid (27c)

^1H NMR (D_2O) δ 1.11~1.14 (d, 3H, $J=6.34$ Hz), 1.19~1.21 (d, 3H, $J=7.18$ Hz), 1.76 (m, 1H), 1.88 (m, 1H), 2.62 (s, 3H), 2.75 (m, 1H), 2.96 (m, 1H), 3.33 (m, 3H), 3.87 (m, 1H), 4.14 (m, 2H), 4.27 (s, 2H), 4.35 (t, 1H), 6.55 (s, 1H).

(1R,5S,6S)-2-((3S,5S)-(5-Dimethylaminomethylisoxazol-3-yl)-1-pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylic acid (27d)

^1H NMR (D_2O) δ 1.07~1.09 (d, 3H, $J=7.14$ Hz), 1.13~1.15 (d, 3H, $J=6.33$ Hz), 1.98 (m, 1H), 2.85 (m, 1H), 3.08 (s, 9H), 3.25 (m, 2H), 3.33 (m, 1H), 3.52 (s, 2H), 3.98 (m, 1H), 4.13 (m, 2H), 4.40 (m, 1H), 6.88 (s, 1H).

(1R,5S,6S)-2-((3S,5S)-(5-Aminomethylisoxazol-3-yl)-1-pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylic acid (27e)

^1H NMR (D_2O) δ 1.06~1.09 (d, 3H, $J=7.20$ Hz), 1.15~1.17 (d, 3H, $J=5.97$ Hz), 1.88 (m, 1H), 2.78 (m, 1H), 3.11 (m, 1H), 3.30 (m, 2H), 3.41 (m, 1H), 3.87 (m, 1H), 4.09 (m, 2H), 4.25 (s, 2H), 4.55 (t, 1H), 6.53 (s, 1H).

(1R,5S,6S)-2-((3S,5S)-(5-Isopropylcarbonylaminoethylisoxazol-3-yl)-1-pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylic acid (27f)

^1H NMR (D_2O) δ 0.95~0.97 (d, 3H, $J=6.93$ Hz), 1.06~1.08 (d, 3H, $J=7.23$ Hz), 1.12~1.14 (d, 3H, $J=6.34$ Hz), 1.89~2.04 (m, 1H), 2.42 (m, 1H), 2.91 (m, 1H), 3.22 (m, 1H), 3.33 (m, 2H), 3.67 (m, 1H), 3.98 (m, 1H), 4.09 (m, 2H), 4.38 (s, 2H), 6.33 (s, 1H).

(1R,5S,6S)-2-((3S,5S)-5-methanesulfonylamino-3-methylisoxazol-3-yl)-1-pyrrolidin-3-ylthio-6-((1R)-1-hydroxyethyl)-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylic acid (27g)

화합물 **26g** 0.26 g (0.43 mmol)을 질소 기류 하에서 증류 정제된 CH₂Cl₂ 10 ml에 용해시키고 얼음 중탕하에서 tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0)을 촉매량 가하고 tributyltinhydride 0.38 ml (1.42 mmol, 3.3 eq)를 적가한다. 그 후 증류수로 추출하여 CH₂Cl₂층은 버리고 증류수층을 취하여 받아 얼려서 동결 건조 시킨다. 동결 건조된 불순한 화합물을 HP-20 Dianion (5% THF 수용액)을 이용하여서 정제한다. 물을 동결 건조로 제거하여 최종 카바페넴인 화합물 **27g** 0.1 g (52%)을 얻는다: ¹H NMR (D₂O) δ 1.06~1.08 (d, 3H, J=7.16 Hz), 1.10~1.12 (d, 3H, J=6.34 Hz), 1.98 (m, 1H), 2.85 (m, 1H), 2.97 (s, 3H), 3.25 (m, 2H), 3.33 (m, 1H), 3.57 (m, 1H), 3.98 (m, 1H), 4.13 (m, 2H), 4.40 (s, 2H), 6.51 (s, 1H).

(2S,4R)-4-Acetylthio-1-allyloxycarbonyl-2-(5'-methylisoxazolocarbamoyl)-pyrrolidine (30a)

화합물 **28** 0.5 g (1.8 mmol)를 무수 THF 10 ml에 용해한 후 얼음 중탕하에서 N-methylmorpholine 0.3 ml (2.2 mmol, 1.5 eq)을 적가한다. 그리고 3-amino-5-methylisoxazole **29a**를 무수 THF 10 ml에 용해한 후 얼음 중탕하에서 N-methyl morpholine 0.32 ml (2.5 mmol, 1.5 eq)을 적가한다. 이것을 화합물 **28**에 떨어뜨리고 상온에서 12시간 동안 교반 후 용매를 감압 증류하여 제거하고 물과 EtOAc로 추출하여서 무수 황산나트륨으로 건조하여 여과한 후 용매를 감압 증류한다. 그리고 column chromatography법으로 정제하여 순수한 화합물 **30a** 0.83 g (59%)를 얻는다: pale brown oil: ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.02~2.11 (m, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 2.70~2.77 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 3.93~4.08 (m, 2H), 4.40~4.45 (m, 1H), 4.59 (m, 2H), 5.18~5.88 (m, 2H), 5.92~5.99 (m, 2H), 6.70 (s, 1H), 9.62 (bs, 1H).

(2S,4R)-4-Acetylthio-1-allyloxycarbonyl-2-(3'-methylisoxazolocarbamoyl)-pyrrolidine (30b)

이 합성은 **30a**의 합성과 동일하게 시행하여 화합물 **30b** 0.31 g (24%)를 얻었다: pale brown oil: ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.02~2.11 (m, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 2.70~2.77 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 3.93~4.08 (m, 2H), 4.40~4.45 (m, 1H), 4.59 (m, 2H), 5.18~5.88 (m, 2H), 5.92~5.99 (m, 2H), 6.23 (s, 1H).

(2S,4R)-4-Acetylthio-1-allyloxycarbonyl-2-(3'-methylisothiazolocarbamoyl)-pyrrolidine (30c)

이 합성은 **30a**의 합성과 동일하게 시행하여 화합물 **30c** 0.45 g (68%)를 얻었다. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 2.02~2.11 (m, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 2.70~2.77 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 3.93~4.08 (m, 2H), 4.40~4.45 (m, 1H), 4.59 (m, 2H), 5.18~5.88 (m, 2H), 5.92~5.99 (m, 2H), 6.23 (s, 1H).

(2S,4R)-4-Mercapto-1-allyloxycarbonyl-2-(3'-methylisothiazolocarbamoyl)-pyrrolidine (31a)

화합물 **30a** 0.38 g (1.1 mmol)를 MeOH 10 ml에 용해한 뒤 1N-NaOH 1.3 ml (1.3 mmol, 1.1 eq)을 적가한다. 얼음 중탕하에서 1시간 동안 교반하고 반응이 종결되면 1N-HCl로 pH=7이 되도록 산성화한 다음 용매를 감압 증류하여 제거하고 물과 CH_2Cl_2 로 추출한 다음 무수 황산나트륨으로 건조하고 여과한 뒤 용매를 감압 증류하여 제거하면 화합물 **31a**를 얻는다.

(2S,4R)-4-mercapto-1-allyloxycarbonyl-2-(3'-methylisoxazolocarbamoyl)-pyrrolidine (31b)

이 합성은 **31a**의 합성과 동일하게 시행한다.

(2S,4R)-4-Mercapto-1-allyloxycarbonyl-2-(3'-methylisothiazolocarbamoyl)-pyrrolidine (31c)

이 합성은 **31a**의 합성과 동일하게 시행한다.

화합물 **31a~c**와 카바페넴 모핵과의 커플링은 상기 **26a~g** 합성법과 동일하다

32a : 0.1 g (16%): pale yellow powder: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.25~1.27 (d, 3H, $J=6$ Hz), 1.36~1.38 (d, 3H, $J=6$ Hz), 1.63 (bs, 1H), 2.42 (s, 3H), 3.25~3.28 (m, 2H), 3.35 (bs, 1H), 3.76 (m, 2H), 4.12~4.27 (m, 4H), 4.45~4.87 (m, 5H), 5.19~5.48 (m, 5H), 5.89~5.94 (m, 2H), 6.92 (s, 1H).

32b : 95 mg (25%): pale yellow powder: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.26~1.28 (d, 3H, $J=6$ Hz), 1.35~1.37 (d, 3H, $J=6$ Hz), 1.65 (bs, 1H), 2.45 (s, 3H), 3.25~3.29 (m, 2H), 3.33 (bs, 1H), 3.78 (m, 2H), 4.11~4.27 (m, 4H), 4.45~4.89 (m, 5H), 5.20~5.45 (m, 5H), 5.78~5.90 (m, 2H), 6.25 (s, 1H).

32c : 150 mg (52%): pale yellow powder: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.27 (d, 3H, $J=6$

Hz), 1.36 (d, 3H, $J=6$ Hz), 1.67 (bs, 1H), 2.43 (s, 3H), 3.25~3.30 (m, 2H), 3.38 (bs, 1H), 3.76 (m, 2H), 4.11~4.27 (m, 4H), 4.45~4.89 (m, 5H), 5.20~5.43 (m, 5H), 5.78~5.89 (m, 2H), 6.23 (s, 1H).

(1R,5S,6S)-2-((3S,5S)-5-(5'-Methylisoxazolocarbamoyl)pyrrolidin-3-yl-thio)-6-[[1R]-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylic acid (33a)

이 합성방법은 27b~g와 동일하게 합성하여 화합물 33a 50 mg (64%)을 얻었다: colorless powder: $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 1.07 (d, 3H, $J=6$ Hz), 1.13 (d, 3H, $J=9$ Hz), 2.04~2.10 (m, 1H), 2.30 (s, 3H), 2.82~2.89 (m, 2H), 3.22~3.35 (m, 3H), 3.58~3.64 (m, 2H), 3.92 (t, 1H), 4.07~4.14 (m, 2H), 4.63 (t, 2H) 6.54 (s, 1H).

33b, 33c도 상기와 같은 방법으로 동일하게 합성하였다.

33b : 45 mg (51%): colorless powder: $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 1.02~1.04 (d, 3H, $J=6$ Hz), 1.12~1.14 (d, 3H, $J=6$ Hz), 2.07~2.11 (m, 1H), 2.11 (s, 3H), 2.82~2.89 (m, 2H), 3.18~3.30 (m, 3H), 3.49~3.56 (m, 2H), 3.84 (t, 1H), 4.07~4.14 (m, 2H), 4.63 (t, 2H) 6.17 (s, 1H).

33c : 230 mg (39%): colorless powder: $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 1.03~1.05 (d, 3H, $J=6$ Hz), 1.13~1.15 (d, 3H, $J=6$ Hz), 2.14~2.20 (m, 1H), 2.18 (s, 3H), 2.82~2.90 (m, 2H), 3.18~3.32 (m, 3H), 3.46~3.53 (m, 2H), 3.80 (t, 1H), 4.07~4.18 (m, 2H), 4.68 (t, 2H) 6.25 (s, 1H).

Mono-*p*-nitrobenzylmalonate (36)

CH_3CN 400 mL에 Meldrum's acid 34 (30 g, 0.21 mol)을 용해시키고 *p*-nitrobenzyl alcohol 35 (38.25 g, 0.25 mol)을 녹여서 약 24시간 동안 환류 교반한다. 감압 농축 후에 10% KHCO_3 수용액을 가하여 녹인후 CH_2Cl_2 로써 세척한다. 물층을 0 $^\circ\text{C}$ 에서 2N-HCl용액으로 pH=2까지 산성화 한 후 아세트산 에틸로 추출한다. 유기용매층을 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과하고 용매를 감압 농축하여 화합물 36을 78.8%의 수율로 39.58 g 얻었다: yellow powder; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 8.14 (d, 2H, $J=8.7$ Hz), 7.48 (d, 2H, $J=8.7$ Hz), 5.22 (s, 2H), 3.37 (s, 2H).

Mono-*p*-nitrobenzylmalonate magnesium salt (37)

THF 160 mL에 화합물 36 (30 g, 0.13 mol)을 용해시키고 15분간 교반한다. 0 $^\circ\text{C}$ 에서 $\text{Mg}(\text{OEt})_2$ (7.17 g, 62.7 mmol, 0.52 eq)를 넣고 반응 온도를 실온까지 천천히 올리면서 3시간 동안 교반한다. 이를 여과한 후 고체에 아세트산 에틸 100 mL

를 가하고 0 °C에서 1시간 동안 교반하여 화합물 **37**을 95.8%의 수율로 30.1 g 얻었다: pale yellow powder.

(3S,4S)-3-[(R)-1-(*t*-Butyldimethylsilyloxy)ethyl]-4-[(R)-1-(*p*-nitrobenzyl-acetoxy)carboxyethyl]azetidin-2-one (39)

BMA **38** (86.62 g, 0.22 mol)에 CDI (51.56 g, 0.33 mol, 1.5 eq)를 가하고 실온에서 1시간 정도 교반시킨다. 여기에 화합물 **37** (132.67 g, 0.27 mol, 1.2 eq)을 넣고 60 °C로 가열하면서 약 18시간동안 교반시킨다. 용매를 감압하에 증류하여 제거하고 여과한 후 여액을 아세트산 에틸로 묽힌 다음 물로 세척한다. 10% NaHCO₃로 세척한 후 무수 황산나트륨으로 건조시키고 여과한 뒤 감압 증류하여 용매를 제거하고 column chromatography법으로 정제하여 화합물 **39**를 95.5%의 수율로 101.06 g 얻었다: pale yellow oil; ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.26 (d, *J*=8.0 Hz, 2H), 7.56 (d, *J*=8.0 Hz, 2H), 5.92 (brs, 1H), 5.30 (s, 2H), 4.20 (m, 1H), 3.96 (dd, *J*=4.5 Hz, 2.8 Hz, 1H), 3.66 (s, 2H), 2.96 (m, 1H), 2.92 (m, 1H), 1.23 (d, *J*=7.6 Hz, 3H), 1.10 (d, *J*=6.8 Hz, 3H), 0.87 (s, 9H), 0.06 (s, 6H).

(3S,4S)-3-[(R)-1-(*t*-Butyldimethylsilyloxy)ethyl]-4-[(R)-1-methyl-3-diazo-3-*p*-nitrobenzyloxycarbonyl-2-oxopropyl]azetidin-2-one (40)

화합물 **39** (10 g, 22 mmol)을 아세트니트릴 100 mL에 용해시키고 *p*-toluenesulfonylazide (6.5 g, 33 mmol, 1.5 eq)를 넣고 30분 정도 교반시킨다. 여기에 TEA (5.5 mL, 39.6 mmol, 1.8 eq)를 0 °C에서 천천히 적가하고 3시간 정도 교반시킨다. 감압 농축하여 용매를 제거한 후 아세트산 에틸로 희석하여 물로 세척한다. 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 다시 용매를 감압 증류하여 제거한 후 column chromatography법으로 정제하여 화합물 **40**을 90.8%의 수율로 10.1 g 얻었다: ivory powder; ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.29 (d, *J*=8.3 Hz, 2H), 7.56 (d, *J*=8.3 Hz, 2H), 5.88 (s, 1H), 5.41 (s, 2H), 4.20 (m, 1H), 3.91-3.93 (m, 2H), 2.98 (m, 1H), 1.29 (d, *J*=7.2 Hz, 3H), 1.20 (d, *J*=6.0 Hz, 3H), 0.90 (s, 9H), 0.06 (s, 6H).

***p*-Nitrobenzyl (1R,5S,6S)-2-keto-6-[1R-1-(*t*-butyldimethylsilyloxy)-ethyl]-1-methylcarbapenam-3-carboxylate (41)**

화합물 **40** (10 g, 19 mmol)을 혼합 용매(아세트산 에틸:헥산=3:1) 200 mL에 용해시키고 Rh(OAc)₂를 촉매량 만큼 가한 후 약 2시간 동안 환류교반시킨다. 여과하여 촉매를 제거한다음 감압 농축하여 용매를 제거하여 화합물 **41**을 얻었다. 화합물 **41**은 불안정하므로 더 이상의 정제를 하지 않고 바로 다음 반응에 이용하였다.

p-Nitrobenzyl (1R,5S,6S)-6-[(1R)-1-(t-butyldimethylsilyloxy)ethyl]-2-diphenylphosphate-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylate (42)

화합물 41 (2.37 g, 4.83 mmol)을 아세토니트릴 50 mL에 녹인다. 0 °C에서 DIEA (1.01 mL, 5.79 mmol, 1.2 eq)을 적가한후 Diphenyl chlorophosphate (1.1 mL, 5.31 mL, 1.1 eq)를 적가하고 이 온도에서 5시간 정도 교반시킨다. 감압 농축한 후 column chromatography로 정제하여 화합물 42를 95.1%의 수율로 3.32 g 얻었다: brown oil. ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.14 (d, *J*=8.5 Hz, 2H), 7.56 (d, *J*=8.5 Hz, 2H), 7.16-7.57 (m, 10H), 5.17-5.38 (m, 2H, rotamer), 4.21 (m, 1H), 3.72 (m, 1H), 3.50 (m, 1H), 3.22 (m, 2H), 0.86 (s, 9H), 0.07 (s, 6H).

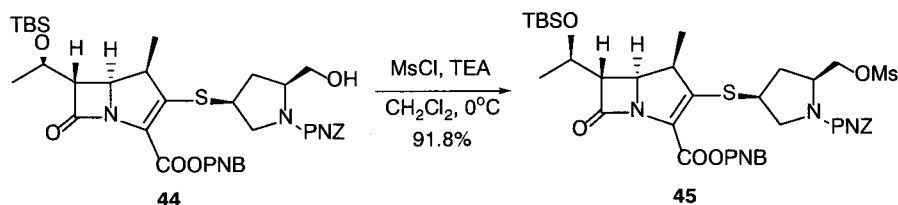
(3S,5S)-5-Hydroxymethyl-3-mercapto-1-(p-nitrobenzyloxycarbonyl)pyrrolidine (43)

화합물 (6.96 g, 19.6 mmol)를 methanol 80 mL에 녹인 다음 0 °C로 낮추어 주고 1N NaOH (21.6 mL, 21.6 mmol, 1.1 eq)를 서서히 적가해 주었다. 이 온도에서 30분간 교반해 주었다. 0°C에서 1N-HCl 18.5 mL를 넣어 pH를 7로 맞춘다음 감압 증류하여 methyl alcohol을 제거하였다. 이어서 ethyl acetate와 물로 추출한 뒤 유기 용매층을 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과하고 감압 증류하여 용매를 제거해 주고 화합물 43을 94.8% 수율로 5.83 g 얻었다. 불안정 하므로 더 이상의 정제를 하지 않고 다음 반응에 이용하였다: brown oil.

p-Nitrobenzyl (1R,5S,6S)-6-[(1R)-1-(t-butyldimethylsilyloxy)ethyl]-2-[(3S,5S)-5-(hydroxymethyl)-1-(p-nitrobenzyloxycarbonyl)-pyrrolidin-3-ylthio]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylate (44)

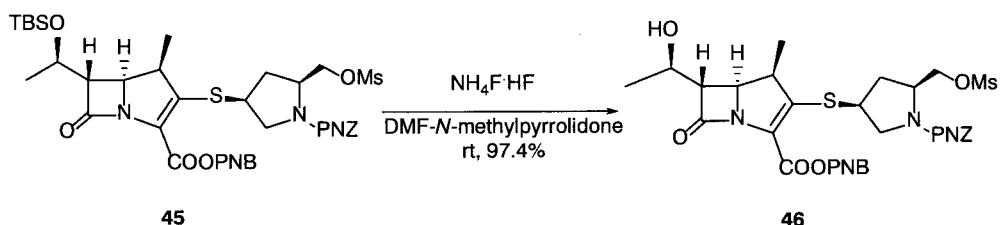
카바페넴모핵인 enol phosphate화합물 42 (14.07 g, 19.4 mmol 1.1 eq)을 아세토니트릴 (100 mL)로 용해시킨 다음, 반응온도를 0°C로 유지시킨 다음 DIEA (3.42 g, 4.6 mL, 26.4 mmol 1.5 eq)를 가한 후 30분간 교반하였다. 여기에 thiol 화합물 43 (5.52 g, 17.7 mmol)을 아세토니트릴(50 mL)에 용해시킨 용액을 천천히 적가하였다. 이 온도에서 1시간동안 교반한 후 실온에서 1시간 동안 더 교반한 다음 감압 증류하여 농축한 후 물과 아세트산 에틸로 추출하였다. 유기층을 분리하여 무수 황산나트륨으로 건조하고 용매를 감압 증류하여 갈색의 기름모양의 액체를 얻었다. 이를 column chromatography로 정제하여 화합물 44를 70.4%의 수율로 9.6 g 얻었다: pale yellow powder; ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.16 (d, *J*=8.6 Hz, 4H), 7.62 (d, *J*=8.6 Hz, 2H), 7.48 (d, *J*=8.6 Hz, 2H), 5.18-5.46 (m, 4H, rotamer), 4.25 (m, 1H), 3.98-4.11 (m, 3H), 3.62-3.71 (m, 3H), 3.24-3.34 (m, 3H), 2.51 (m, 1H), 1.72 (m, 1H), 1.25 (d, *J*=7.0 Hz, 3H), 1.21 (d, *J*=6.2 Hz, 3H), 0.81 (s, 9H), 0.04 (s, 6H).

p-Nitrobenzyl (1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-1-(*t*-buthyldimethylsilyloxy)ethyl]-2-[(3*S*,5*S*)-5-(methanesulfonyloxymethyl)-1-(*p*-nitrobenzyloxycarbonyl)-pyrrolidin-3-ylthio]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylate (45)



화합물 44 (6.6 g, 8.6 mmol)을 무수 CH₂Cl₂ 100 mL로 용해시키고 0 °C로 냉각시킨 후 triethylamine (1.44 mL, 10.3 mmol, 1.2 eq)을 천천히 적가하고 30분간 교반시켰다. 이어서 반응 혼합물에 MSCl (0.73 mL, 9.4 mmol, 1.1 eq)를 가한후 약 1시간 가량 교반시켰다. 물로 세척하고 (50 mL × 2) 유기 용매층을 분리하여 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과하고 감압 증류하여 용매를 제거시켰다. 이를 column chromatography로 정제하여 화합물 45를 91.84%의 수율로 6.64 g 얻었다: pale yellow powder; ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.18 (d, *J*=8.0 Hz, 4H), 7.61 (d, *J*=8.0 Hz, 2H), 7.49 (d, *J*=8.0 Hz, 2H), 5.18–5.43 (m, 4H, rotamer), 4.21–4.52 (m, 2H), 4.02 (m, 1H), 3.70 (m, 1H), 3.23–3.36 (m, 3H), 2.99 (s, 3H), 2.60 (m, 1H), 2.00 (m, 1H), 1.21 (m, 6H), 0.81 (s, 9H), 0.03 (s, 6H).

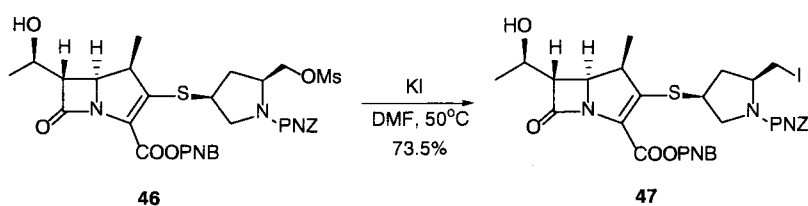
p-Nitrobenzyl (1*R*,5*S*,6*S*)-2-[(3*S*,5*S*)-5-(methanesulfonyloxymethyl)-1-(*p*-nitrobenzyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio]-6-[(1*R*)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylate (46)



화합물 45 (9.4 g, 11.1 mmol)을 DMF 및 *N*-methylpyrrolidone(65 mL/24 mL) 혼합용매로 용해시키고 NH₄F·HF(2.53 g, 44.3 mmol, 4 eq.)을 가하였다. 반응 혼합물을 2일 동안 실온에서 교반시킨 후 ethyl acetate 400 mL를 가하여 물렸다. 반응 용액을 증류수(100 mL × 3)로 세척하고 유기 용매층을 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과하고 감압 증류하여 용매를 제거하였다. 이를 column chromatography

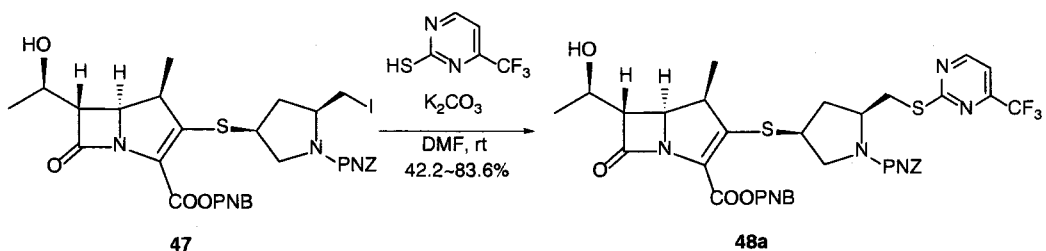
로 정제하여 화합물 **46**을 97.4%의 수율로 7.92 g 얻었다: yellow powder; ^1H NMR (CDCl_3) δ 8.18 (d, $J=8.2$ Hz, 4H), 7.62 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 7.49 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 5.18–5.48 (m, 4H, rotamer), 4.15–4.46 (m, 5H), 4.02 (m, 1H), 3.70 (m, 1H), 3.30 (m, 1H), 3.01 (s, 3H), 2.60 (m, 1H), 2.05 (m, 1H), 1.32 (d, $J=6.3$ Hz, 3H), 1.25 (d, $J=7.1$ Hz, 3H).

p-Nitrobenzyl (1R,5S,6S)-2-[(3S,5S)-5-(iodomethyl)-1-(p-nitrobenzyloxy-carbonyl)pyrrolidin-3-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylate (47)



화합물 **46** (4.3 g, 5.9 mmol)을 DMF (50 mL)에 용해시킨 다음 potassium iodide (4.86 g, 29.25 mmol, 5.0 eq)를 넣어 주고 이를 하루동안 50 °C에서 교반시켰다. 반응 혼합물을 냉각시킨 후 얼음물 100 mL를 가하였다. CH_2Cl_2 100 mL로 추출해 준 다음 증류수(100 mL \times 3)로 세척하고 유기 용매층을 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과하고 감압 증류하여 용매를 제거하였다. 이를 column chromatography로 정제하여 화합물 **47**을 73.5%의 수율로 3.27 g 얻었다: yellow powder; ^1H NMR (CDCl_3) δ 8.24 (d, $J=8.4$ Hz, 4H), 7.66 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.52 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 5.24–5.51 (m, 4H, rotamer), 4.20–4.30 (m, 2H), 3.89–4.17 (m, 2H), 3.60–3.72 (m, 2H), 3.32–3.58 (m, 3H), 3.20 (m, 1H), 2.60 (m, 1H), 1.99 (m, 1H), 1.37 (d, $J=6.2$ Hz, 3H), 1.28 (d, $J=7.0$ Hz, 3H).

p-Nitrobenzyl (1R,5S,6S)-2-[(3S,5S)-5-[(4-(trifluoromethyl)pyrimidine-2-thio)methyl]-1-(p-nitrobenzyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylate (48a)



4-(Trifluoromethyl)-2-pyrimidinethiol (74.2 mg, 0.41 mmol, 1.1 eq)을 DMF 5 mL에 용해시키고 K_2CO_3 (62.14 mg, 0.45 mmol, 1.2 eq)를 첨가하여 실온에서 30분 간 교반한 후 화합물 **47** (287 mg, 0.37 mmol, 1 eq)을 DMF 3 mL에 용해시켜 천천히 적가하여 이 온도에서 2시간정도 교반시킨다. 여과한 다음 그 여액을 10 mL 증류수로 풀히고 아세트산 에틸로 추출한 후 증류수 (10 mL \times 3)로 세척한다. 유기 용매층을 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과하고 감압 증류하여 용매를 제거하였다. 이를 column chromatography로 정제하여 화합물 **48a**를 83.6%의 수율로 257 mg 얻었다: pale yellow powder; 1H NMR ($CDCl_3$) δ 8.79 (d, $J=5.1$ Hz, 1H), 8.21 (d $J=8.8$ Hz, 4H), 7.64 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.52 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.27 (d, $J=5.1$ Hz, 1H), 5.22-5.49 (m, 4H, rotamer), 4.01-4.48 (m, 4H), 3.60-3.95 (m, 3H), 3.25-3.42 (m, 3H), 2.60 (m, 1H), 2.07 (m, 1H), 1.38 (d, $J=6.3$ Hz, 3H), 1.29 (d, $J=7.2$ Hz, 3H).

화합물 **48b~f**를 상기의 일반적인 합성방법에 의해 합성하였다.

48b: 56%, 279 mg: pale yellow powder; 1H NMR ($CDCl_3$) δ 8.20 (d, $J=8.7$ Hz, 4H), 7.93 (d, $J=5.7$ Hz, 1H), 7.64 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.25 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 6.11 (d, $J=5.7$ Hz, 1H), 5.11-5.50 (m, 4H, rotamer), 3.99-4.30 (m, 4H), 3.25-3.35 (m, 6H), 2.50 (m, 1H), 1.89 (m, 1H), 1.36 (d, $J=5.8$ Hz, 3H), 1.24 (d, $J=6.9$ Hz, 3H).

48c: 71%, 362 mg: pale yellow powder; 1H NMR ($CDCl_3$) δ 8.19 (d, $J=8.7$ Hz, 4H), 7.63 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.50 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 6.05 (s, 1H), 5.20-5.50 (m, 4H, rotamer), 3.90-4.25 (m, 5H), 3.26-3.65 (m, 5H), 2.55 (m, 1H), 2.20 (m, 1H), 1.33 (d, $J=6.1$ Hz, 3H), 1.22 (d, $J=7.2$ Hz, 3H).

48d: 42%, 172 mg: pale yellow powder; 1H NMR ($CDCl_3$) δ 8.20 (d, $J=8.6$ Hz, 4H), 7.63 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 7.55 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 5.23-5.49 (m, 5H, rotamer), 4.24-4.41 (m, 3H), 4.12 (m, 1H), 3.27-3.68 (m, 6H), 2.55 (m, 1H), 2.05 (m, 1H), 1.36, (d, $J=6.2$ Hz, 3H), 1.24 (d, $J=6.9$ Hz, 3H).

48e: 55%, 281 mg: pale yellow powder; 1H NMR ($CDCl_3$) δ 8.21 (d, $J=8.7$ Hz, 4H), 7.65 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.53 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 6.08 (s, 1H), 5.22-5.50 (m, 4H, rotamer), 4.25-4.31 (m, 3H), 3.27-4.01 (m, 7H), 2.65 (m, 1H), 2.28 and 2.21 (s, 3H), 2.02 (m, 1H), 1.37 (d, $J=6.2$ Hz, 3H), 1.28 (d, $J=7.0$ Hz, 3H).

48f: 42%, 310 mg: pale brown powder; 1H NMR ($CDCl_3$) δ 8.21-8.26 (m, 4H),

7.66 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 7.53 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 5.22–5.53 (m, 4H, rotamer), 4.26–4.30 (m, 2H), 4.03–4.12 (m, 2H), 3.55–3.77 (m, 3H), 3.28–3.40 (m, 3H), 2.55 (m, 1H), 1.76 (m, 1H), 1.36 (d, $J=6.2$ Hz, 3H), 1.30 (d, $J=7.2$ Hz, 3H).

(1*R*,5*S*,6*S*)-2-[(3*S*,5*S*)-5-[(4-(Trifluoromethyl)pyrimidine-2-thio)methyl]-pyrrolidin-3-ylthio]-6-[(1*R*)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylate (49a)

Pd-C 250 mg을 Parr-reactor bottle에 가하고 증류수 8 mL로 적셔준 후 화합물 **48a** (250 mg, 0.31 mmol)를 THF 10 mL로 용해시켜서 가한다. 수소 기체를 50~55 psi로 충전시키고 이를 유지시키면서 약 2시간 정도 반응시켰다. 여과한후에 아세트산 에틸(20 mL ×3)로 세척하고 물층을 동결건조시켰다. HP-20 Diaion resin을 충전제로 하고 3~5% THF 용액을 전개용매로 하여 column chromatography법으로 정제한 후 다시 동결 건조시켜 목적물 **49a**를 21.4%의 수율로 33 mg 얻었다: colorless powder; ^1H NMR (D_2O) δ 8.82 (d, $J=5.1$ Hz, 1H), 7.56 (d, $J=5.1$ Hz, 1H), 4.12–4.20 (m, 2H), 3.79–3.87 (m, 2H), 3.60 (m, 1H), 3.30–3.51 (m, 4H), 3.18 (m, 1H), 2.67 (m, 1H), 1.67 (m, 1H), 1.22 (d, $J=6.3$ Hz, 3H), 1.14 (d, $J=7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (D_2O) δ 16.24, 20.45, 32.53, 35.20, 40.76, 42.98, 52.77, 56.38, 58.94, 60.85, 65.45, 113.24, 116.96, 133.24, 139.40, 154.13, 160.84, 166.62, 167.92, 176.78; HRMS calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{F}_3\text{N}_4\text{NaO}_4\text{S}_2(\text{M}+\text{Na})$ 527.1011, found 527.1012.

화합물 **49b~f**를 상기 일반적인 합성방법에 따라 합성하였다.

49b: 18.3%, 27 mg: colorless powder; ^1H NMR (D_2O) δ 7.80 (d, $J=6.1$ Hz, 1H), 6.23 (d, $J=6.1$ Hz, 1H), 4.08–4.15 (m, 2H), 3.87–3.91 (m, 2H), 3.19–3.48 (m, 6H), 2.64 (m, 1H), 1.73 (m, 1H), 1.17 (d, $J=6.3$ Hz, 3H), 1.09 (d, $J=7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (D_2O) δ 16.26, 20.48, 32.70, 35.42, 40.58, 42.86, 52.72, 56.30, 59.03, 60.51, 65.46, 102.78, 133.59, 139.00, 155.21, 163.78, 167.94, 169.20, 176.83; HRMS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_4\text{S}_2(\text{M}+\text{H})^+$ 452.1426, found 452.1424.

49c: 17.3%, 29 mg: colorless powder; ^1H NMR (D_2O) δ 5.93 (s, 1H) 4.13–4.63 (m, 2H), 3.93–3.95 (m, 2H), 3.27–3.56 (m, 6H), 2.69 (m, 1H), 1.82 (m, 1H), 1.22 (d, $J=6.4$ Hz, 3H), 1.14 (d, $J=7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (D_2O) δ 16.27, 20.46, 32.65, 35.45, 40.48, 42.88, 52.72, 56.30, 59.03, 60.52, 65.61, 96.31, 133.58, 138.97, 166.69, 167.97, 169.19, 176.73; HRMS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{N}_6\text{O}_4\text{S}_2(\text{M}+\text{H})^+$ 467.1535, found 467.1526.

49d: 13.2%, 21 mg: colorless powder; ^1H NMR (D_2O) δ 5.47 (s, 1H), 4.12–4.19 (m, 2H), 3.90–3.92 (m, 2H), 3.25–3.41 (m, 5H), 2.67 (m, 1H), 1.79 (m, 1H), 1.22 (d, $J=6.3$ Hz, 3H), 1.44 (d, $J=7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (D_2O) δ 16.25, 20.44, 32.56, 35.38, 40.73, 42.90, 52.77, 56.29, 58.93, 60.85, 65.46, 81.29, 133.24, 139.40, 163.91, 167.96, 169.10, 176.75; HRMS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{NaO}_4\text{S}_2$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$ 489.1355, found 489.1350.

49e: 21.3%, 31 mg: colorless powder; ^1H NMR (D_2O) δ 5.64 (s, 1H), 4.14–4.32 (m, 3H), 3.71–4.00 (m, 3H), 3.32–3.43 (m, 3H), 2.93 (m, 1H), 2.57 (m, 1H), 2.21 (s, 3H), 1.96 (m, 1H), 1.20 (d, $J=6.3$ Hz, 3H), 1.12 (d, $J=7.1$ Hz, 3H); HRMS calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{NaO}_5\text{S}_2$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$ 489.1242, found 489.1229.

49f: 16.2%, 28 mg: pale-red powder; ^1H NMR (D_2O) δ 4.11–4.17 (m, 3H), 3.90 (m, 1H), 3.73 (m, 1H), 3.57 (m, 1H), 3.24–3.38 (m, 4H), 2.65 (m, 1H), 1.58 (m, 1H), 1.20 (d, $J=6.4$ Hz, 3H), 1.12 (d, $J=7.2$ Hz, 3H); HRMS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}_5\text{S}_2$ 482.1406, found 482.1213.

3-Ethoxycarbonyl-5-hydroxymethylisoxazole (50)

Propargyl alcohol 4.2 ml (72.2 mmol)와 ethyl ether 200 ml, ethyl chloro-oximidoacetate 5 g (36.1 mmol)을 상온에서 혼합 용해시키고 여기에 triethylamine 5 ml와 ethyl ether 100 ml의 용액을 5시간 동안 가한다. 물 300 ml을 넣고 유기 층을 취하여 용매제거 후 관 chromatography하여 화합물 **50** 3.5 g (61.5%)을 얻었다. ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.37 (t, 3H), 3.57 (s, 1H), 4.41 (q, 2H), 4.80 (s, 2H), 6.64 (s, 1H).

3-Hydroxycarbonyl-5-hydroxymethylisoxazole (51)

화합물 **50** 316 g (20.1 mmol)을 claisen base 하에서 가수분해하여 acid 화합물 **51** 2.64 g (92%)을 얻었다. ^1H NMR (CDCl_3) δ 4.70 (s, 2H), 6.62 (s, 1H).

3-Allyloxycarbonyl-5-hydroxymethylisoxazole (52)

^1H NMR (CDCl_3); δ 4.58 (m, 2H), 4.81 (m, 2H), 5.21 (m, 2H), 6.01 (m, 1H), 6.65 (s, 1H).

3-Allyloxycarbonyl-5-bromomethylisoxazole (53)

화합물 **52** (2.30 g, 12.6 mmol)을 무수 methylene chloride 30 ml에 용해 시킨 후 온도를 -20 °C하에서 triphenylphosphine 3.8 g (14.5 mmol)를 넣은 다음 동 온

도에서 CBr_4 4.7 g (14.2 mmol)을 천천히 가한 다음 동 온도에서 30분 교반한다. 감압 증류로부터 용매를 제거한후 column chromatography로 분리하여 화합물 **53** (1.75 g, 56%)을 얻었다. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 4.58 (m, 2H), 4.81 (m, 2H), 5.21 (m, 2H), 6.01 (m, 1H), 6.65 (s, 1H).

3-Allyloxycarbonyl-5-isothiazolylmethyltriphenylphosphonium bromide (54)

화합물 **53** 1.72 g (7 mmol)을 CH_3CN 20 ml에 용해 시킨 후 triphenylphosphine 2 g (7.6 mmol)을 넣은 후 3시간 가열 환류 시킨 후 냉각하여 생성된 화합물 **54** 3.2g g (90%)을 여과하여 얻었다. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 4.58 (m, 2H), 4.81 (m, 2H), 5.21 (m, 2H), 6.27 (d, 2H, $J=14.67$ Hz), 7.12 (s, 1H), 7.67 (m, 6H), 7.82 (m, 9H).

(3S,5R)-5-[(E)-2-(3-Allyloxycarbonyl-5-isothiazolyl)ethenyl]-3-methanesulfonyloxy-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (55)

화합물 **54** 3.0 g (5.9 mmol)을 THF 30 ml에 가한 다음 온도를 -78 °C까지 냉각시킨 후, 온도를 유지시키면서 sodium bis(trimethylsilyl)amide 1M THF 6.2 mL를 서서히 적가해 주었다. 온도를 -30 °C 까지 올려 약 30분간 교반해 준 뒤 다시 -78 °C로 낮추어 준 다음 THF 30 mL에 녹인 aldehyde 화합물 (1.6 g, 5.9 mmol)을 온도를 유지시키면서 서서히 적가해 주었다. 실온까지 올려 1시간 30분 가량 교반해 준 뒤 온도를 0 °C까지 낮추어 주고 포화된 NH_4Cl 용액을 넣어 주었다. 감압 증류하여 용매를 제거해주고 물 50 mL와 CH_2Cl_2 50 mL로 추출해 준 다음 유기 용매 층을 무수 Na_2SO_4 로 건조시킨 후 여과하고 감압 증류하여 용매를 제거해 주었다. 이를 column chromatography로 정제하여 미색의 화합물 **55** 1.91 g (76%)을 얻었다. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 2.16 (m, 1H), 2.61 (m, 1H), 3.08 (s, 3H), 3.68-3.78 (m, 1H), 4.00 (m, 1H), 4.60 (m, 3H), 4.69 (m, 1H), 5.25~5.45 (m, 5H), 5.98 (m, 2H), 6.48-6.50 (s, 2H), 6.57 (m, 1H).

(3S,5S)-3-Acetylthio-5-[(E)-2-(3-allyloxycarbonyl-5-isoxazolyl)ethenyl]-1-(4-nitrobenzyloxycarbonyl)pyrrolidine (56)

화합물 **55** 1.05 g (2.46 mmol)을 acetone/DMF 혼합용매 (3:1) 30 mL에 녹인 다음 potassium thioacetate 0.64 g (5.9 mmol, 2.4 eq)를 넣어 주고 이를 약 5시간 환류시켰다. 온도를 낮추어 주고 감압 증류하여 용매를 제거해주고 물 50 mL와 CH_2Cl_2 50 mL로 추출해 준 다음 유기 용매층을 무수 Na_2SO_4 로 건조시킨 후 여과하고 감압 증류하여 용매를 제거해 주었다. 이를 column chromatography로 정제하여 미색의 액체화합물 **56** 0.75 g (75%)를 얻었다. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.89 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.70 (m, 1H), 3.38 (m, 1H), 4.00-4.09 (m, 2H), 4.61 (m, 3H),

4.88 (m, 3H), 5.32~5.47 (m, 4H), 6.05 (m, 2H), 6.54 (s, 2H), 6.60 (m, 1H).

(3S,5S)-3-Acetylthio-5-[(E)-2-(3-allyloxycarbonyl-5-isoxazolyl)ethenyl]-1-(4-nitrobenzyloxycarbonyl)pyrrolidine (62)

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃) δ 1.87 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.62 (m, 1H), 3.14 (s, 3H), 3.28 (s, 3H), 3.38 (m, 1H), 4.00-4.12 (m, 2H), 4.61 (m, 2H), 5.21 (m, 2H), 6.05 (m, 1H), 6.46~6.56 (m, 3H).

Allyl (1R,5S,6S)-2-((3S,5S)-5-[(E)-2-(3-allyloxycarbonyl-5-isothiazolyl)ethenyl]-1-(4-allyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylate (64a)

Alloc (1R,5S,6S)-2-(diphenylphosphoryloxy)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylate 0.67 g (1.36 mmol)을 질소 하에서 증류 정제된 CH₃CN 50 mL에 녹인 후 얼음 중탕 하에서 *N,N*-diisopropylethylamine (0.28 mL, 1.64 mmol)을 가하고 티올 화합물(94) (0.46 g, 1.36 mmol)을 증류 정제된 CH₃CN 10 mL에 풀혀서 느린 속도로 적가한다. 1시간 30분 후에 반응액을 EtOAc와 소금물로 추출한다. 유기층을 취하여 무수 MgSO₄로 건조시켜서 감압 농축시킨다. 불순한 화합물을 관 크로마토그래피 (3:2-3:1 EtOAc/hexene)를 이용하여 정제하여서 화합물 **64a-E** 0.48 g (65%) 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.28 (d, 3H, *J*=7.22 Hz), 1.36 (d, 3H, *J*=6.24 Hz), 1.89 (m, 1H), 2.18 (m, 1H), 2.74 (m, 1H), 3.28 (m, 1H), 3.40 (m, 2H), 3.73 (m, 1H), 4.18 (m, 1H), 4.25 (m, 2H), 4.58~4.89 (m, 7H), 5.24~5.48 (m, 6H), 5.96 (m, 3H), 6.56 (m, 3H).

Allyl (1R,5S,6S)-2-((3S,5S)-5-[(E)-2-(3-allyloxycarbonyl-5-isothiazolyl)ethenyl]-1-(4-allyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylate (64b)

¹H NMR (CDCl₃) δ 1.27 (d, 3H, *J*=7.14 Hz), 1.36 (d, 3H, *J*=6.25 Hz), 1.89 (m, 1H), 2.20 (m, 1H), 2.74(m, 1H), 3.13 (s, 3H), 3.24~3.30 (m, 5H), 3.73 (m, 2H), 4.25 (m, 2H), 4.58 (m, 3H), 4.72 (m, 1H), 4.80 (m, 1H), 5.24~5.48 (m, 4H), 5.95 (m, 2H), 6.49 (m, 3H).

(1R,5S,6S)-2-((3S,5S)-5-[(1E)-2-(3-Allyloxycarbonyl-5-isothiazolyl)ethenyl]pyrrolidin-3-yl)thio-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (65a)

64a (100 mg, 0.17 mmol)를 CH₂Cl₂ (1.70 ml)에 녹이고, Pd(Ph₃)₄ (6.00 mg, 0.0052 mmol)를 가하고, 0 °C에서 ⁿBu₃SnH (0.093 ml, 0.35 mmol)를 적가했다. 같

은 온도에서 1시간 동안 교반한후, 물을 가해 반응을 정지시키고, 물층을 AcOEt로 씻어주었다. 물층을 동결건조 시킨 후, DIANION HP-20에 의해 정제해서 흰색 고체 생성물 **65a** (75.7 mg, 96%)를 얻었다. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.28 (d, 3H, $J=7.22$ Hz), 1.36 (d, 3H, $J=6.24$ Hz), 1.89 (m, 1H), 2.18 (m, 1H), 2.74(m, 1H), 3.28 (m, 1H), 3.40 (m, 2H), 3.73 (m, 1H), 4.18 (m, 1H), 4.25 (m, 2H), 4.58~4.89 (m, 7H), 5.24~5.48 (m, 6H), 5.96 (m, 3H), 6.56 (m, 3H).

(1R,5S,6S)-2-((3S,5S)-5-((1E)-2-(3-Allyloxycarbonyl-5-isothiazolyl)-ethenyl)pyrrolidin-3-yl)thio-6-((1R)-1-hydroxyethyl)-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (65b)

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.13 (d, 3H, $J=7.21$ Hz), 1.20 (d, 3H, $J=6.36$ Hz), 1.87 (m, 1H), 2.75 (m, 1H), 3.03 (d, 6H, $J=7.21$ Hz), 3.30 (m, 1H), 3.38 (m, 2H), 3.65 (m, 1H), 3.92 (m, 1H), 4.15 (m, 2H), 4.35 (m, 1H), 6.59~6.80 (m, 3H).

(2S,4R)-N-t-Butoxycarbonyl-4-t-butyl dimethylsilyloxy-2-[1-hydroxy-2-(methoxycarbonyl)ethyl]pyrrolidine (66)

THF 50 ml에 1M-sodium hexamethyldisilazide THF 용액 9.1 ml (9.1 mmol)을 -78°C 에서 넣은 후 methyl acetate 0.72 ml을 천천히 넣은후 30분 동안 동온도에서 교반시킨후 aldehyde 2 g (6.07 mmol)을 소량의 THF에 용해시킨후 천천히 가하였다. 30분 교반후에 소금물과 EA로부터 화합물을 추출후 column chromatography법으로 정제하여 순수한 화합물 **66** 2.32 g (94.7%)를 얻었다. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.05 (s, 6H), 0.87 (s, 9H), 1.43~1.47 (d, 9H), 1.78~2.06 (m, 2H), 2.37~2.49 (m, 2H), 3.27~3.65 (m, 2H), 3.70 (s, 3H), 3.8~4.26 (m, 2H) 4.23~4.39 (br, 2H).

(2S,4R)-N-t-Butoxycarbonyl-4-t-butyl dimethylsilyloxy-2-[1-t-butyl-dimethylsilyloxy-2-(methoxycarbonyl)ethyl]pyrrolidine (67)

화합물 **66** 10.9 g (270 mmol)을 얼음 중탕하에서 DMF에 용해한 후 imidazole 2.4 g (35.1 mmol, 1.3 eq)을 적가한 후 tert-butyl dimethyl chlorosilane을 적가한다. 실온으로 올린 후 2시간 가량 교반하여 반응이 종결하면 DMF의 5배 가량의 물과 EtOAc로 추출하고 유기 용매층을 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후 여과하고 용매를감압 증류하여 화합물 **67** 12.6 g (90%)을 얻는다: pale yellow oil: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.09 (s, 12H), 0.87 (s, 18H), 1.25 (t, 3H), 1.43~1.47 (d, 9H), 2.03~2.37 (m, 4H), 3.40 (m, 1H), 3.99~4.28 (m, 4H), 4.70 (s, 1H), 5.18 (m, 1H).

(2*S*,4*R*)-*N*-*t*-Butoxycarbonyl-4-*t*-butyldimethylsilyloxy-2-[1-*t*-butyl-dimethylsilyloxy-2-(hydroxyimido)ethylpyrrolidine (70)

화합물 **69** 7.8 g (0.016 mol)을 EtOH 120 mL에 용해한 후 hydroxyamine hydrochloride 1.2 g (0.017 mol, 1.07 eq)을 적가하여 교반한 후 pyridine 12 ml를 적가한다. 상온에서 18시간 동안 교반하여 반응이 정결하면 용매를 감압 증류하여 제거한 후 물을 넣고 2시간 동안 교반한다. 결정이 생기면 여과하여 물로 씻어주면 화합물 **70** 6.3 g (78%)을 얻는다: white powder ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.05 (s, 12H), 0.87 (s, 18H), 1.47 (d, 9H), 1.62~1.67 (m, 2H), 1.76 (m, 1H), 2.19 (m, 1H), 3.29 (m, 2H), 3.70 (m, 2H), 3.95 (t, 1H), 4.35~4.49 (m, 2H).

(2*S*,4*R*)-*N*-*t*-Butoxycarbonyl-4-*t*-butyldimethylsilyloxy-2-[1-*t*-butyl-dimethylsilyloxy-2-(3-hydroxymethylisoxazol-5-yl)ethylpyrrolidine (71)

화합물 14.5 g (29 mmol)을 DMF 200 ml에 용해한 후 질소기류하에서 N-chlorosuccinimide 4.26 g (32 mmol, 1.1 eq)을 넣고 5-10분간 교반한다. 그 후 60 °C에서 30분간 교반한 후 2 °C로 냉각시킨다. 여기에 propargylalcohol 8.2 ml (145 mmol, 5 eq)를 적가한 다음 DMF 40 ml에 용해되어 있는 TEA 4.46 ml (32 mmol, 1.1 eq)를 약 30분간에 걸쳐 서서히 적가한다. 그리고 2 °C에서 30분간 교반 후 실온에서 2시간 동안 교반한다. 반응이 끝나면 DMF의 5배 정도의 물과 EtOAc로 추출하고 유기층을 소금물로 닦아내고 무수 황산나트륨으로 건조하여 여과한 후 감압 증류하여 용매를 제거한다. 그리고 column chromatography로 정제하여 화합물 **71** 7.5 g (60.6%)을 얻었다: pale yellow oil: ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.01 (s, 12H), 0.89 (s, 18H), 1.45 (d, 9H), 1.77 (m, 1H), 1.76 (m, 1H), 2.73 (m, 3H), 3.02 (m, 1H), 3.29 (m, 2H), 3.85 (m, 1H), 4.42 (m, 2H), 4.61 (t, 1H), 4.73 (m, 3H), 6.11~6.30 (d, 1H, J=56.13 Hz).

(2*S*,4*R*)-*N*-Allyloxycarbonyl-4-*t*-butyldimethylsilyloxy-2-[1-*t*-butyl-dimethylsilyloxy-2-(3-ethoxycarbonylmethylisoxazol-5-yl)ethylpyrrolidine (72)

화합물 **71** 8.23 g (14.8 mmol)을 CH₂Cl₂/TFA=1/1에 4 °C에서 1시간 동안 교반한다. 반응이 끝나면 용매를 감압 증류하여 제거한 다음 여기에 THF를 넣어 용해시킨다. 얼음 중탕하에서 TEA 20 ml (143.6 mmol, 9.8 eq)를 넣고 allyl chloroformate 1.74 ml (16.3 mmol, 1.1 eq)를 넣는다. 실온에서 1.5시간 동안 교반 한 후 반응이 종결되면 용매를 감압 증류 한 다음 물과 EtOAc로 추출하여 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조한 다음 여과한 후 감압증류한다. 그리고 column chromatography법으로 정제하여 화합물 **72** 4.42 g (70%)을 얻었다: pale yellow oil: ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.01 (s, 6H), 0.05 (s, 6H), 0.89 (s, 18H), 1.83 (m, 1H), 2.24

(m, 1H), 2.73 (m, 3H), 3.39 (m, 2H), 3.88 (m, 1H), 4.44 (t, 1H), 4.56~4.58 (m, 3H), 4.66~4.73 (m, 4H), 5.18~5.32 (m, 3H), 5.89 (m, 1H), 6.13~6.28 (d, 1H, J=45.78 Hz).

(2S,4R)-N-Allyloxycarbonyl-4-hydroxy-2-[1-hydroxy-2-(3-ethoxy-carbonylmethylisoxazol-5-yl)ethylpyrrolidine (73)

화합물 **72** 4.51g (7.74mmol)을 무수 THF 80ml에 용해 시킨 후 얼음 중탕하에서 tetrabutylammonium fluoride 31ml (31mmol, 2eq)를 적가한다. 0℃에서 약 1시간 교반 후 반응이 끝나면 용매를 감압 증류하여 제거하고 물과 EtOAc로 추출하여 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조하여 여과한 후 감압증류한다. 그리고 column chromatography로 정제하여 순수한 화합물 **73** 1.97 g (72%)을 얻었다: pale white oil: ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.38 (t, 3H), 2.02~2.08 (m, 3H), 2.76 (m, 1H), 2.86 (m, 1H), 3.46 (m, 1H), 3.72 (m, 1H), 4.11~4.29 (m, 2H), 4.40~4.48 (m, 4H), 4.60 (m, 1H), 4.66~4.73 (m, 4H), 5.22~5.35 (m, 2H), 5.94 (m, 1H), 6.95 (s, 1H).

(2S,4R)-N-Allyloxycarbonyl-4-methansulfonyoxy-2-[1-ethoxycarbonyl-2-(3-hydroxymethylisoxazol-5-yl)ethylpyrrolidine (74)

화합물 **73** 1.84 g (5.2 mmol)을 무수 CH₂Cl₂ 80 ml에 용해 시킨 후 얼음 중탕하에서 TEA 0.87 ml (6.24 mmol, 1.2 eq)를 적가한 후 methansulfonyl chloride 0.44 ml (5.7 mmol, 1.1 eq)을 적가한다. 실온에서 1시간 동안 교반한 후 반응이 종결되면 CH₂Cl₂와 물과 추출하여 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조하여 여과한 후 감압 증류하면 화합물 **74** 1.95 g (87%)을 얻는다: pale yellow oil: ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.41 (t, 3H), 2.37 (m, 2H), 2.79 (m, 1H), 2.86 (m, 1H), 3.06~3.15 (m, 4H), 3.64 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 4.02 (m, 1H), 4.24 (m, 1H), 4.39~4.46 (m, 3H), 4.62 (m, 2H), 5.24~5.35 (m, 3H), 5.94 (m, 1H), 6.91 (s, 1H).

(2S,4R)-N-Allyloxycarbonyl-4-methansulfonyoxy-2-[1-hydroxy-2-(3-hydroxymethylisoxazol-5-yl)ethylpyrrolidine (75)

화합물 **74** 10.4 g (24 mmol)을 질소기류하에서 무수 THF 35 ml에 용해시킨다. 얼음중탕하에서 lithium chloride anhydrous 2.05 g (48 mmol, 2 eq)와 sodium borohydride 1.82 g (48 mmol, 2 eq)를 적가시킨 후 EtOH 70 ml를 서서히 떨어뜨린다. 실온으로 올려 약 8시간 가량 교반시킨 후 반응이 종결되면 불용성 물질을 여과하고 THF와 ethyl alcohol을 감압 증류하여 제거한 후 citric acid를 가한 뒤 물과 EtOAc로 추출하여 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시킨다. 이 용매를 여과하고 감압 증류하여 화합물 **75** 8.0 g (85%)을 얻었다: white oil: ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.69 (m, 1H), 2.06 (m, 1H), 2.47 (m, 1H), 2.79 (m, 2H), 3.03 (s, 3H), 3.52 (m,

1H), 3.95 (m, 2H), 4.59 (m, 2H), 4.76 (m, 3H), 5.24~5.35 (m, 3H), 5.92 (m, 1H), 6.21 (d, 1H, J=41.91 Hz).

(2S,4R)-N-Allyloxycarbonyl-4-acethylthio-2-[1-hydroxy-2-(3-hydroxy-methylisoxazol-5-yl)ethylpyrrolidine (76)

화합물 **75** 1.76 g (4.5 mmol)을 무수 CH₃CN 100 ml에 용해 시킨 후 질소 기류 하에서 potassium thioacetate 1.03 g (9 mmol, 2 eq)을 적가한다. 그리고 약 8시간 가열환류한다. 반응이 종결하면 물과 EtOAc로 추출하여 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조하여 여과한 후 감압 증류한다. 그리고 column chromatography로 정제하여 순수한 화합물 **76** 1.16 g (70%)을 얻었다: brown oil: ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.89 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.45 (m, 1H), 2.59~2.71 (m, 2H), 2.79 (m, 1H), 3.12 (m, 1H), 3.82 (m, 1H), 4.07 (m, 2H), 4.18 (m, 2H), 4.62 (m, 2H), 4.73 (m, 2H), 5.24~5.35 (m, 2H), 5.94 (m, 1H), 6.27 (s, 1H).

Allyl (1R,5S,6S)-2-[(3S,5S)-5-[-2-(1-hydroxy-2-(3-hydroxymethylisothiazol-5-yl)ethyl]-1-(4-allyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylate (78)

(3S,4S)-3-[(R)-1-Hydroxycarbonyl-2-oxopropyl]-azetidin-2-one 0.65 g (2.2 mmol)을 EtOAc/n-hexane(3/1) 30 ml에 용해시키고 Rhodium acetate dimer를 촉매량 넣어준 뒤 1시간 가량 가열환류시킨다. 반응이 끝나면 용매를 감압 증류하여 제거하고 얻어진 화합물 allyloxy carbonyl(1R,5S,6S)-6-[(1R)-1-hydroxymethyl]-1-methyl-2-oxo-carbapenem-3-carboxylate는 더 이상의 정제없이 질소 기류하에서 무수 CH₃CN 30 ml에 용해시킨 후 얼음 중탕 하에서 N,N-diisopropylethylamine 0.6 ml (3.5 mmol, 1.6 eq)을 가하고 Diphenylchlorophosphate 0.6 ml (2.9 mmol, 1.3 eq)을 적가한다. 반응이 끝나면 여기에 다시 N, N-diisopropylethylamine 0.57 ml (3.3 mmol, 1.5 eq)을 가하고 화합물 thiol **77**을 무수 CH₃CN에 용해시킨 것을 느린 속도로 적가한다. 2시간 후에 반응액을 EtOAc와 소금물로 추출한다. 유기층을 취하여 무수 황산나트륨으로 건조하여 여과한 후 감압 증류하고 불순한 화합물을 column chromatography법으로 정제하여 순수한 화합물 **78** 0.25 g (25%)을 얻는다: pale brown powder: ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.27~1.30 (d, 3H, J=7.11 Hz), 1.36~1.38 (d, 3H, J=6.24 Hz), 1.96 (m, 1H), 2.38 (m, 1H), 2.75 (m, 1H), 2.79 (m, 1H), 3.27 (m, 3H), 3.53 (m, 1H), 4.10 (m, 2H), 4.25 (m, 3H), 4.58~4.78 (m, 5H), 5.26~5.49 (m, 3H), 5.95 (m, 2H), 6.26 (s, 1H).

(1*R*,5*S*,6*S*)-2-((3*S*,5*S*)-5-[-2-(1-Hydroxy-2-(3-hydroxymethylisothiazol-5-yl)ethyl]pyrroli-din-3-yl)thio-6-[(1*R*)-1-hydroxyethyl]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (79)

화합물 **78** 0.25 g (0.43 mmol)을 질소 기류 하에서 증류 정제된 CH₂Cl₂ 10 ml에 용해시키고 얼음 중탕하에서 tetrakis(typhenylphosphine)palladium(0)을 촉매량 가하고 tributyltinhydride 0.38 ml (1.42 mmol, 3.3 eq)를 적가한다. 3시간 후에 반응이 끝나면 증류수로 추출하여 CH₂Cl₂층은 버리고 증류수층을 취하여 받아 얼려서 동결 건조 시킨다. 동결 건조된 불순한 화합물을 HP-20 Dianion (5% THF 수용액)을 이용하여서 정제한다. 물을 동결 건조로 제거하여 최종 카바페넴인 화합물 **79** 0.1 g (52%)을 얻는다: brown powder: ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.10~1.12 (d, 3H, J=7.59 Hz), 1.16~1.18 (d, 3H, J=6.39 Hz), 1.81 (m, 1H), 2.52 (m, 1H), 2.75~2.85 (m, 2H), 3.21~3.34 (m, 2H), 3.35 (m, 1H), 3.51 (m, 1H), 3.61 (m, 1H), 3.87 (m, 1H), 4.10 (m, 2H), 4.13 (m, 1H), 4.91 (m, 1H), 6.30 (s, 1H).

(2*S*,4*R*)-4-*t*-Butyldimethylsilyloxy-1-*t*-butoxycarbonyl-2-(5-ethoxy-carbonylisoxazolin-3-yl)pyrrolidine (80)

화합물 **7** 10 g (29 mmol)을 DMF 200 ml에 용해한 후 질소기류하에서 N-chlorosuccinimide 4.26 g (32 mmol, 1.1 eq)을 넣고 5-10분간 교반한다. 그 후 60 °C에서 30분간 교반한 후 2 °C로 냉각시킨다. 여기에 ethyl acrylate 12.5 ml (145 mmol, 5 eq)를 적가한 다음 DMF 40 ml에 용해되어 있는 TEA 4.46 ml (32 mmol, 1.1 eq)를 약 30분간에 걸쳐 서서히 적가한다. 그리고 2 °C에서 30분간 교반 후 실온에서 2시간 동안 교반한다. 반응이 끝나면 DMF의 5배 정도의 물과 EtOAc로 추출하고 유기층을 소금물로 닦아내고 무수 황산나트륨으로 건조하여 여과한 후 감압 증류하여 용매를 제거한다. 그리고 column chromatography로 정제하여 화합물 **100** 7.5 g (60.6%) 얻었다: pale yellow oil: ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.07 (s, 6H), 0.84 (s, 9H), 1.32 (t, 3H), 1.43~-1.47 (d, 9H), 2.18 (m, 2H), 3.25 (m, 2H), 3.47 (m, 2H), 4.23 (q, 2H), 4.45 (m, 1H), 4.60 (s, 2H), 4.48-4.90 (m, 1H), 5.28 (m, 2H), 5.95 (m, 1H).

(2*S*,4*R*)-4-*t*-Butyldimethylsilyloxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-ethoxy-carbonylisoxazolin-3-yl)pyrrolidine (81)

화합물 **80** 6.55 g (14.8 mmol)을 CH₂Cl₂/TFA=1/1에 4 °C에서 1시간 동안 교반한다. 반응이 끝나면 용매를 감압 증류하여 제거한 다음 여기에 THF를 넣어 용해시킨다. 얼음 중탕하에서 TEA 20 ml (143.6 mmol, 9.8 eq)를 넣고 allyl chloroformate 1.74 ml (16.3 mmol, 1.1 eq)를 넣는다. 실온에서 1.5시간 동안 교반 한 후 반응이 종결되면 용매를 감압 증류 한 다음 물과 EtOAc로 추출하여 유기층을 무수

황산나트륨으로 건조한 다음 여과한 후 감압증류한다. 그리고 column chromatography법으로 정제하여 화합물 **81** 4.42 g (70%)을 얻었다: pale yellow oil: ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.07 (s, 6H), 0.84 (s, 9H), 1.32 (t, 3H), 2.18 (m, 2H), 3.25 (m, 2H), 3.47 (m, 2H), 4.23 (q, 2H), 4.45 (m, 1H), 4.60 (s, 2H), 4.48-4.90 (m, 1H), 5.28 (m, 2H), 5.95 (m, 1H).

(2S,4R)-4-*t*-Butyldimethylsilyloxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-hydroxycarbonylisoxazolin-3-yl)pyrrolidine (82)

화합물 **81** 4.43 g (10.4 mmol)을 MeOH에 용해시킨 후 얼음 중탕하에서 claisen alkali 8.5 g을 천천히 적가한다. 약 1시간 정도 교반후 반응이 끝나면 citric acid로 산성화시킨 다음 감압 증류하여 용매를 제거 한 후 물과 EtOAc로 추출하여 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조하여 여과한 후 감압 증류하여 제거시키고 column chromatography법으로 정제하여 화합물 **82** 4.04 g (98%)을 얻었다: pale yellow oil: ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.07 (s, 6H), 0.84 (s, 9H), 2.18 (m, 2H), 3.25 (m, 2H), 3.47 (m, 2H), 4.45 (m, 1H), 4.60 (s, 2H), 4.48-4.90 (m, 1H), 5.28 (m, 2H), 5.95 (m, 1H).

(2S,4R)-4-*t*-Butyldimethylsilyloxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-allyloxycarbonylisoxazolin-3-yl)pyrrolidine (83)

화합물 **82** 4.06 g (10.2 mmol)을 80 ml의 DMF에 용해시킨 후 질소 기류하에서 TEA 2.6 ml (18.3 mmol, 1.8 eq)를 적가한 후 allyl bromide 1.94 ml (22.4 ml, 2.2 eq)를 적가한다. 65 °C에서 약 1시간 정도 교반 후 반응이 끝나면 DMF의 약 5 배 정도의 물과 EtOAc로 추출하여 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조하여 여과한 후 감압 증류한다. 그리고 column chromatography법으로 정제하여 화합물 **83** 3.38 g (76%)을 얻었다: pale yellow oil: ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.07 (s, 6H), 0.84 (s, 9H), 2.50~2.66 (m, 2H), 3.26~3.35 (m, 2H), 3.69 (m, 1H), 4.03 (m, 1H), 4.60~4.68 (d, 2H), 4.69~4.70 (d, 2H), 4.90 (m, 1H), 5.12 (m, 1H), 5.25~5.35 (m, 5H), 5.90~5.94 (m, 1H).

(2S,4R)-4-Hydroxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-allyloxycarbonylisoxazolin-3-yl)pyrrolidine (84)

화합물 **83** 3.39 g (7.74 mmol)을 무수 THF 80 ml에 용해 시킨 후 얼음 중탕하에서 tetrabutylammonium fluoride 15.5 ml (15.5 mmol, 2 eq)를 적가한다. 0 °C에서 약 1시간 교반 후 반응이 끝나면 용매를 감압 증류하여 제거하고 물과 EtOAc로 추출하여 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조하여 여과한 후 감압증류한다. 그리고 column chromatography로 정제하여 순수한 화합물 **84** 1.8 g (72%)을 얻었다: pale

white oil: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 2.50~2.66 (m, 2H), 3.26~3.35 (m, 2H), 3.69 (m, 1H), 4.03 (m, 1H), 4.60~4.68 (d, 2H), 4.69~4.70 (d, 2H), 4.90 (m, 1H), 5.12 (m, 1H), 5.25~5.35 (m, 5H), 5.90~5.94 (m, 1H).

(2S,4R)-4-Methansulfonyloxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-allyloxycarbonyl-isoxazolin-3-yl)pyrrolidine (85)

화합물 **84** 1.7 g (5.2 mmol)을 무수 CH_2Cl_2 80 ml에 용해 시킨 후 얼음 중탕하에서 TEA 0.87 ml (6.24 mmol, 1.2 eq)를 적가한 후 methansulfonyl chloride 0.44 ml (5.7 mmol, 1.1 eq)을 적가한다. 실온에서 1시간 동안 교반한 후 반응이 종결되면 CH_2Cl_2 와 물과 추출하여 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조하여 여과한 후 감압 증류하면 화합물 **85** 1.82 g (87%)을 얻는다: pale yellow oil: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 2.52~2.66 (m, 2H), 3.06 (s, 3H), 3.28~3.35 (m, 2H), 3.69 (m, 1H), 4.03 (m, 1H), 4.60~4.68 (d, 2H), 4.69~4.70 (d, 2H), 4.90 (m, 1H), 5.12 (m, 1H), 5.25~5.35 (m, 5H), 5.90~5.94 (m, 2H).

(2S,4R)-4-Acetylthio-1-allyloxycarbonyl-2-(5-allyloxycarbonylisoxazolin-3-yl)pyrrolidine (86)

화합물 **85** 1.8 g (4.5 mmol)을 무수 CH_3CN 100 ml에 용해 시킨 후 질소 기류하에서 potassium thioacetate 1.03 g (9 mmol, 2 eq)을 적가한다. 그리고 약 8시간 가열환류한다. 반응이 종결하면 물과 EtOAc로 추출하여 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조하여 여과한 후 감압 증류한다. 그리고 column chromatography로 정제하여 순수한 화합물 **86** 1.2 g (70%)을 얻었다: brown oil: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 2.11 (m, 1H), 2.34 (s, 3H), 2.67 (m, 1H), 3.27~3.34 (m, 3H), 3.88 (m, 1H), 4.10 (m, 1H), 4.55~4.69 (m, 4H), 4.86 (m, 1H), 5.05 (m, 1H), 5.21~5.39 (m, 4H), 5.87~5.94 (m, 1H).

(2S,4R)-4-Acetylthio-1-allyloxycarbonyl-2-(5-ethoxycarbonylisoxazolin-3-yl)pyrrolidine (86b)

위의 방법과 동일 하게 합성하였다. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.33 (t, 3H), 2.08 (m, 1H), 2.34 (s, 3H), 2.62 (m, 1H), 3.27~3.34 (m, 3H), 3.92 (m, 1H), 4.10 (m, 1H), 4.21~4.28 (m, 2H), 4.58~4.60 (m, 2H), 4.80 (m, 1H), 5.05 (m, 1H), 5.21~5.31 (m, 4H), 5.94 (m, 1H).

(2S,4R)-4-Mercapto-1-allyloxycarbonyl-2-(5-allyloxycarbonylisoxazolin-3-yl)pyrrolidine (87)

화합물 0.64 g (1.7 mmol)을 얼음 중탕하에서 allyl alcohol에 용해시킨다. 그리

고 여기에 1N sodium thiomethoxide 1.87 ml (1.87 mmol, 1.1 eq)을 천천히 적가한다. 얼음 중탕하에서 30분간 교반한 후 물과 EtOAc로 추출하여 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조하고 여과한 후 감압증류하여 제거하면 화합물 **87** 0.5 g (86%)을 얻는다.

(2S,4R)-4-Mercapto-1-allyloxycarbonyl-2-(5-ethoxycarbonylisoxazolin-3-yl)pyrrolidine (88)

동일한 방법으로 합성하여 정제하지 않고 다음 반응을 실시하였다.

(2S,4R)-4-*t*-Butyldimethylsilyloxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-hydroxymethylisoxazolin-3-yl)pyrrolidine (89)

화합물 **81** 9.8 g (24 mmol)을 질소기류하에서 무수 THF 35 ml에 용해시킨다. 얼음중탕하에서 lithium chloride anhydrous 2.0 g (48 mmol, 2 eq)와 sodium borohydride 1.8 g (480 mmol, 2 eq)를 적가시킨 후 EtOH 70 ml를 서서히 떨어뜨린다. 실온으로 올려 약 8시간 가량 교반시킨 후 반응이 종결되면 불용성 물질을 여과하고 THF와 ethyl alcohol을 감압 증류하여 제거한 후 citric acid를 가한 뒤 물과 EtOAc로 추출하여 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시킨다. 이 용매를 여과하고 감압 증류하여 화합물 **89** 7.5 g (85%)을 얻었다: white oil: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.05 (s, 6H).

(2S,4R)-4-*t*-Butyldimethylsilyloxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-dimethylaminomethylisoxazolin-3-yl)pyrrolidine (97a)

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0.07 (s, 6H), 0.87 (s, 9H), 2.18 (m, 2H), 2.28 (s, 6H), 2.43 (m, 1H), 2.51 (m, 1H), 2.72 (m, 1H), 3.01 (m, 1H), 3.51 (m, 2H), 4.03 (m, 1H), 4.45 (m, 1H), 4.59 (s, 2H), 4.72 (m, 1H), 4.82 (m, 1H), 5.19~5.35 (m, 2H), 5.90~5.94 (m, 1H).

(2S,4R)-4-Methansulfonyloxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-hydroxymethylisoxazolin-3-yl)pyrrolidine(up) (97d)

위의 방법과 동일 하게 합성하였다. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 2.05 (m, 1H), 2.54 (m, 2H), 2.93~3.05 (m, 2H), 3.07 (s, 3H), 3.53~3.59 (m, 1H), 3.69 (m, 1H), 4.09 (m, 1H), 4.61 (s, 2H), 4.72 (m, 1H), 4.89 (m, 1H), 5.23~5.35 (m, 3H), 5.92 (m, 1H).

(2S,4R)-4-Methansulfonyloxy-1-allyloxycarbonyl-2-(5-hydroxymethylisoxazolin-3-yl)pyrrolidine(dnn) (97e)

위의 방법과 동일 하게 합성하였다. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 2.05 (m, 1H), 2.54 (m,

2H), 2.93~3.05 (m, 2H), 3.07 (s, 3H), 3.53~3.59 (m, 1H), 3.69 (m, 1H), 4.09 (m, 1H), 4.61 (s, 2H), 4.72 (m, 1H), 4.89 (m, 1H), 5.23~5.35 (m, 3H), 5.92 (m, 1H).

(2S,4R)-4-Acetylthio-1-allyloxycarbonyl-2-(5-allyloxycarbonylmethyl-aminomethylisoxazolin-3-yl)pyrrolidine (98a)

위의 방법과 동일 하게 합성하였다. ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.12 (m, 1H), 2.34 (s, 3H), 2.66 (m, 2H), 2.85 (m, 1H), 3.04 (sm, 4H), 3.31 (m, 2H), 3.54 (m, 1H), 4.00 (m, 1H) 4.10 (m, 1H), 4.58~4.60 (m, 4H), 4.78 (m, 2H), 5.21~5.34 (m, 4H), 5.87~5.96 (m, 2H).

(2S,4R)-4-Acetylthio-1-allyloxycarbonyl-2-(5-dimethylaminomethyl-isoxazolin-3-yl)pyrrolidine (98b)

위의 방법과 동일 하게 합성하였다. ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.03 (m, 1H), 2.29 (s, 6H), 2.35 (s, 3H), 2.38 (m, 1H), 2.55 (m, 1H), 2.65 (m, 1H), 2.85 (m, 1H), 3.18 (m, 1H), 3.28 (m, 1H), 3.96 (m, 1H), 4.12 (m, 1H), 4.58~4.60 (m, 2H), 4.78~4.83 (m, 2H), 5.21~5.34 (m, 2H), 5.94 (m, 1H).

(2S,4R)-4-Acetylthio-1-allyloxycarbonyl-2-(5-allyloxycarbonylamino-methylisoxazolin-3-yl)pyrrolidine (98c)

위의 방법과 동일 하게 합성하였다. ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.12 (m, 1H), 2.34 (s, 3H), 2.66 (m, 2H), 2.85 (m, 1H), 3.04 (m, 1H), 3.31 (m, 2H), 3.54 (m, 1H), 4.00 (m, 1H) 4.10 (m, 1H), 4.58~4.60 (m, 4H), 4.78 (m, 2H), 5.21~5.34 (m, 4H), 5.87~5.96 (m, 2H).

(2S,4R)-4-Acetylthio-1-allyloxycarbonyl-2-(5-hydroxymethylisoxazolin-3-yl)pyrrolidine (98d)

위의 방법과 동일 하게 합성하였다. ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.05 (m, 2H), 2.34 (s, 3H), 2.68 (m, 1H), 2.97 (m, 1H), 3.02 (m, 1H), 3.27~3.32 (m, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.77 (m, 1H), 4.03 (m, 1H), 4.18 (m, 1H), 4.58 (m, 2H), 4.80 (m, 2H), 5.21~5.35 (m, 2H), 5.94 (m, 1H).

(2S,4R)-4-Acetylthio-1-allyloxycarbonyl-2-(5-hydroxymethylisoxazolin-3-yl)pyrrolidine (98e)

위의 방법과 동일 하게 합성하였다. ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.05 (m, 2H), 2.34 (s, 3H), 2.68 (m, 1H), 2.97 (m, 1H), 3.02 (m, 1H), 3.27~3.32 (m, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.77 (m, 1H), 4.03 (m, 1H), 4.18 (m, 1H), 4.58 (m, 2H), 4.80 (m, 2H), 5.21~5.35

(m, 2H), 5.94 (m, 1H).

(2S,4R)-4-Mercapto-1-allyloxycarbonyl-2-(5-allyloxycarbonylmethyl-aminomethylisoxazolin-3-yl)pyrrolidine (99a)

동일한 방법으로 합성하여 정제하지 않고 다음 반응을 실시하였다.

(2S,4R)-4-Mercapto-1-allyloxycarbonyl-2-(5-dimethylaminomethyl-isoxazolin-3-yl)pyrrolidine (99b)

동일한 방법으로 합성하여 정제하지 않고 다음 반응을 실시하였다.

(2S,4R)-4-Mercapto-1-allyloxycarbonyl-2-(5-allyloxycarbonylamino-methylisoxazolin-3-yl)pyrrolidine (99c)

동일한 방법으로 합성하여 정제하지 않고 다음 반응을 실시하였다.

(2S,4R)-4-Mercapto-1-allyloxycarbonyl-2-(5-hydroxymethylisoxazolin-3-yl)pyrrolidine (99d)

동일한 방법으로 합성하여 정제하지 않고 다음 반응을 실시하였다.

(2S,4R)-4-Mercapto-1-allyloxycarbonyl-2-(5-hydroxymethylisoxazolin-3-yl)pyrrolidine (99e)

동일한 방법으로 합성하여 정제하지 않고 다음 반응을 실시하였다.

Allyl (1R,5S,6S)-2-((3S,5S)-(5-Allyloxycarbonylisoxazolin-3-yl)-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio)-6-((1R)-1-hydroxyethyl)-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylate (100f)

(3S,4S)-3-[(R)-1-Hydroxycarbonyl-2-oxopropyl]-azetidin-2-one 0.65 g (2.2 mmol)을 EtOAc/n-hexane(3/1) 30 ml에 용해시키고 rhodium acetate dimer를 촉매량 넣어준 뒤 1시간 가량 가열환류시킨다. 반응이 끝나면 용매를 감압 증류하여 제거하고 얻어진 화합물 allyloxycarbonyl (1R,5S,6S)-6-[(1R)-1-hydroxymethyl]-1-methyl-2-oxo-carbapenem-3-carboxylate는 더 이상의 정제없이 질소 기류하에서 무수 CH₃CN 30 ml에 용해시킨 후 얼음 중탕 하에서 N,N-diisopropylethylamine 0.6 ml (3.5 mmol, 1.6 eq)을 가하고 diphenylchlorophosphate 0.6 ml (2.9 mmol, 1.3 eq)을 적가한다. 반응이 끝나면 여기에 다시 N,N-diisopropylethylamine 0.57 ml (3.3 mmol, 1.5 eq)을 가하고 화합물 thiol을 무수 CH₃CN에 용해 시킨 것을 느린 속도로 적가한다. 2시간 후에 반응액을 EtOAc와 소금물로 추출한다. 유기층을 취하여 무수 황산나트륨으로 건조하여 여과한 후 감압 증류하고 불순한 화합물을

column chromatography 방법으로 정제하여 순수한 화합물 **100f** 0.25 g (25%)을 얻는다: pale brown powder: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.27~1.30 (d, 3H, $J=6.48$ Hz), 1.35~1.37 (d, 3H, $J=6.27$ Hz), 1.86 (m, 1H), 2.71 (m, 1H), 3.27~3.36 (m, 5H), 3.88 (m, 1H), 4.12 (m, 1H), 4.23~4.25 (m, 2H), 4.59~4.69 (m, 6H), 4.87 (m, 1H), 5.18 (m, 1H), 5.25~5.34 (m, 6H), 5.97 (m, 1H).

Allyl (1*R*,5*S*,6*S*)-2-((3*S*,5*S*)-(5-allyloxycarbonylmethylaminomethylisoxazolin-3-yl)-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1*R*)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylate (100a)

동일한 방법으로 합성하였다. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.27~1.29 (d, 3H, $J=7.14$ Hz), 1.36~1.38 (d, 3H, $J=6.27$ Hz), 2.06 (m, 1H), 2.64 (m, 2H), 3.02 (m, 4H), 3.30 (m, 3H), 3.74 (m, 3H), 4.13 (m, 1H), 4.27 (m, 1H), 4.59~4.62 (m, 5H), 4.80 (m, 3H), 5.24~5.35 (m, 6H), 5.93 (m, 3H).

Allyl (1*R*,5*S*,6*S*)-2-((3*S*,5*S*)-(5-dimethylaminomethylisoxazolin-3-yl)-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1*R*)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylate (100b)

동일한 방법으로 합성하였다. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.27~1.29 (d, 3H, $J=7.14$ Hz), 1.36~1.38 (d, 3H, $J=6.27$ Hz), 2.06 (m, 1H), 2.64 (m, 2H), 3.02 (m, 4H), 3.30 (m, 3H), 3.74 (m, 3H), 4.13 (m, 1H), 4.27 (m, 1H), 4.62 (m, 3H), 4.80 (m, 3H), 5.24~5.35 (m, 4H), 5.93 (m, 2H).

Allyl (1*R*,5*S*,6*S*)-2-((3*S*,5*S*)-(5-allyloxycarbonylaminomethylisoxazolin-3-yl)-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1*R*)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylate (100c)

동일한 방법으로 합성하였다. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.27~1.29 (d, 3H, $J=7.13$ Hz), 1.36~1.38 (d, 3H, $J=6.24$ Hz), 1.88 (m, 1H), 2.24 (m, 1H), 2.69 (m, 1H), 3.02 (m, 1H), 3.26 (m, 3H), 3.32 (m, 2H), 3.71 (m, 1H), 4.01 (m, 1H), 4.12 (m, 1H), 4.27 (m, 1H), 4.57~4.62 (m, 4H), 4.71 (m, 1H), 4.80 (m, 3H), 5.24~5.49 (m, 7H), 5.93 (m, 3H).

Allyl (1*R*,5*S*,6*S*)-2-((3*S*,5*S*)-(5-hydroxymethylisoxazolin-3-yl)-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1*R*)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylate (100d)

동일한 방법으로 합성하였다. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.27~1.29 (d, 3H, $J=7.12$ Hz), 1.35~1.37 (d, 3H, $J=6.16$ Hz), 2.12~2.31 (m, 2H), 2.53 (m, 1H), 2.69 (m, 1H),

3.07 (m, 2H), 3.26 (m, 1H), 3.38 (m, 1H), 3.46 (m, 2H), 3.57 (m, 1H), 3.76 (m, 2H), 4.01 (m, 1H), 4.27 (m, 2H), 4.61~4.85 (m, 6H), 5.24~5.49 (m, 4H), 5.96 (m, 2H).

Allyl (1*R*,5*S*,6*S*)-2-((3*S*,5*S*)-(5-hydroxymethylisoxazolin-3-yl)-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1*R*)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylate (100e)

동일한 방법으로 합성하였다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.27~1.29 (d, 3H, J=7.12 Hz), 1.35~1.37 (d, 3H, J=6.16 Hz), 2.12~2.31 (m, 2H), 2.53 (m, 1H), 2.69 (m, 1H), 3.07 (m, 1H), 3.26 (m, 1H), 3.38 (m, 1H), 3.46 (m, 2H), 3.57 (m, 1H), 3.76 (m, 2H), 4.01 (m, 1H), 4.27 (m, 2H), 4.61~4.85 (m, 6H), 5.24~5.49 (m, 4H), 5.96 (m, 2H)

Allyl (1*R*,5*S*,6*S*)-2-((3*S*,5*S*)-(5-methyloxycarbonylisoxazolin-3-yl)-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1*R*)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylate (100g)

동일한 방법으로 합성하였다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.25~1.27 (d, 3H, J=6.46 Hz), 1.35~1.37 (d, 3H, J=6.28 Hz), 2.01 (m, 1H), 2.72 (m, 1H), 3.26~3.39 (m, 5H), 3.76 (m, 1H), 3.80 (s, 3H), 4.12 (m, 1H), 4.27 (m, 2H), 4.59~4.62 (m, 2H), 4.76 (m, 1H), 4.87 (m, 1H), 5.12 (m, 1H), 5.25~5.49 (m, 4H), 5.97 (m, 2H).

(1*R*,5*S*,6*S*)-2-((3*S*,5*S*)-(5-Hydroxycarbonylisoxazolin-3-yl)-1-pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1*R*)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylic acid (101f)

화합물 0.25 g (0.43 mmol)을 질소 기류 하에서 증류 정제된 CH₂Cl₂ 10 ml에 용해시키고 얼음 중탕하에서 tetrakis(typhenylphosphine)palladium(0)을 촉매량 가하고 tributyltinhydride 0.38 ml (1.42 mmol, 3.3 eq)를 적가한다. 3시간 후에 반응이 끝나면 증류수로 추출하여 CH₂Cl₂층은 버리고 증류수층을 취하여 받아 얼려서 동결 건조 시킨다. 동결 건조된 불순한 화합물을 HP-20 Dianion (5% THF 수용액)을 이용하여서 정제한다. 물을 동결 건조로 제거하여 최종 카바페넴 화합물 **101f** 0.1 g (52%)을 얻는다: brown powder: ¹H NMR (D₂O) δ 0.95~1.15 (d, 3H, J=7.12 Hz), 1.17~1.19 (d, 3H, J=6.31 Hz), 1.61~1.65 (m, 1H), 2.55 (m, 1H), 2.88 (m, 1H), 2.88 (dd, 1H), 3.07 (m, 1H), 3.19~3.39 (m, 3H), 3.76 (m, 1H), 3.93 (m, 1H), 4.07~4.13 (m, 2H), 4.81~4.85 (t, 1H).

(1*R*,5*S*,6*S*)-2-((3*S*,5*S*)-(5-Methylaminomethylisoxazolin-3-yl)-1-pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1*R*)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylic acid (101a)

동일한 방법으로 합성하였다. ¹H NMR (D₂O) δ 1.10~1.13 (d, 3H, J=7.2 Hz), 1.18~1.20 (d, 3H, J=6.3 Hz), 1.72 (m, 1H), 2.57 (m, 1H), 2.67 (s, 3H), 2.91 (m, 2H), 3.13 (m, 2H), 3.28~3.34 (m, 4H), 3.78 (m, 1H), 4.13 (m, 3H), 4.93 (m, 1H).

(1*R*,5*S*,6*S*)-2-((3*S*,5*S*)-(5-Dimethylaminomethylisoxazolin-3-yl)-1-pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1*R*)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylic acid (101b)

동일한 방법으로 합성하였다. ¹H NMR (D₂O) δ 1.09~1.12 (d, 3H, J=7.16 Hz), 1.17~1.19 (d, 3H, J=6.3 Hz), 1.69 (m, 1H), 2.57 (m, 1H), 2.84 (m, 8H), 3.19~3.34 (m, 7H), 3.78 (m, 1H), 4.13 (m, 3H), 5.13 (m, 1H).

(1*R*,5*S*,6*S*)-2-((3*S*,5*S*)-(5-Aminomethylisoxazolin-3-yl)-1-pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1*R*)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylic acid (101c)

동일한 방법으로 합성하였다. ¹H NMR (D₂O) δ 1.08~1.10 (d, 3H, J=7.14 Hz), 1.15~1.18 (d, 3H, J=6.33 Hz), 1.72 (m, 1H), 2.52 (m, 1H), 2.92 (m, 2H), 3.06 (m, 2H), 3.25~3.32 (m, 4H), 3.74 (m, 1H), 4.07~4.13 (m, 3H), 4.85 (m, 1H).

(1*R*,5*S*,6*S*)-2-((3*S*,5*S*)-(5-Hydroxymethylisoxazolin-3-yl)-1-pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1*R*)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylic acid (101d)

동일한 방법으로 합성하였다. ¹H NMR (D₂O) δ 1.13~1.15 (d, 3H, J=7.18 Hz), 1.20~1.22 (d, 3H, J=6.31 Hz), 1.90~2.01 (m, 1H), 2.82~2.95 (m, 2H), 3.18~3.40 (m, 4H), 3.58 (m, 1H), 3.66~3.70 (m, 2H), 4.02 (m, 1H), 4.13~4.16 (m, 2H), 4.48 (m, 1H), 4.75 (m, 1H).

(1*R*,5*S*,6*S*)-2-((3*S*,5*S*)-(5-Hydroxymethylisoxazolin-3-yl)-1-pyrrolidin-3-ylthio)-6-[(1*R*)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylic acid (101e)

동일한 방법으로 합성하였다. ¹H NMR (D₂O) δ 1.13~1.15 (d, 3H, J=7.18 Hz), 1.20~1.22 (d, 3H, J=6.31 Hz), 1.90~2.01 (m, 1H), 2.82~2.95 (m, 2H), 3.18~3.40 (m, 4H), 3.58 (m, 1H), 3.66~3.70 (m, 2H), 4.02 (m, 1H), 4.13~4.16 (m, 2H), 4.48 (m, 1H), 4.75 (m, 1H).

(1*R*,5*S*,6*S*)-2-[(3*S*,5*S*)-(5-Methoxycarbonylisoxazolin-3-yl)-1-pyrrolidin-3-ylthio]-6-[(1*R*)-1-hydroxyethyl]-1-methyl-1-carbapen-2-em-3-carboxylic acid (101g)

동일한 방법으로 합성하였다. ¹H NMR (D₂O) δ 1.08~1.10 (d, 3H, J=7.22 Hz) 1.15~1.17 (d, 3H, J=6.36 Hz), 1.74~1.78 (m, 1H), 2.65 (m, 1H), 3.12 (m, 1H) 3.22~3.32 (m, 4H), 3.68 (s, 3H), 3.74 (m, 1H), 4.07~4.13 (m, 2H), 4.25 (m, 1H).

PART B

(2*S*,4*R*)-4-Mesyloxy-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid methyl ester (2)

4-하이드록시-피롤리딘-1,2-다이카르복시 엑시드-1-알릴에스터-2-메틸에스터 (1) 92.5 g(0.41 mol)과 트리에틸아민 65.0 mL(0.49 mol)를 정제된 메틸렌 클로라이드 600 mL로 용해한 후, 0 °C로 냉각시킨다. 메탄설폰닐 클로라이드 56.0 g(0.49 mol)을 적가하고 1시간을 교반시킨다. 반응종결시 메틸렌 클로라이드 500 mL와 물 500 mL를 이용하여 유기층을 추출하고, 10% 소듐 바이카르보네이트 용액 400 mL로 씻어준다. 유기층을 무수 소듐설페이트로 건조, 여과하여 용매를 감압농축한 후, 크로마토그래피로 분리회수하여 노란색 오일형태의 정제된 화합물(2) 23.2 g(93.2%)을 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.27 (m, 1H), 2.75 (m, 1H), 3.06(s, 3H), 3.77 and 3.80 (2s, 3H), 3.82-3.97 (m, 2H), 4.42 (m, 1H), 4.57 (d, 2H, J=5.8 Hz), 5.25 (m, 3H), 5.92 (m, 1H).

(2*S*,4*S*)-4-Trythio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid methyl ester (3)

소듐 하이드라이드 11.6 g(0.29 mol, 60% 오일 현탁)을 0 °C로 냉각된 정제된 DMF 600 mL에 적가하고, 트리페닐메틸메르캡탄 80.0 g(0.29 mol)을 적가한 후, 30분을 교반시킨다. (2*S*,4*R*)-4-메실록시-1-(알릴옥시카르보닐)피롤리딘-2-카르복시엑시드 메틸 에스터(2) 75.7 g(0.25 mol)을 DMF 150 mL로 용해시켜, 만들어진 반응 혼합물질에 천천히 적가하여 3시간을 교반시킨다. 묽힌 염산 수용액을 붓고 에틸 아세테이트로 추출한다. 유기용매를 소듐 설페이트로 건조, 여과하여 용매를 감압농축한다. 이를 크로마토그래피로 분리회수하여 노란색 오일형태의 정제된 화합물(3) 100.6 g(82.5%)을 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.01 (m, 1H), 2.55 (m, 1H), 3.16 (bs, 1H), 3.54 (bs, 1H), 3.77 and 3.80 (2s, 3H), 3.97 (m, 1H), 4.42 (m, 1H), 4.55 (d, 2H, J=5.5 Hz), 5.26 (m, 2H), 5.98 (m, 1H) 7.23 (m, 9H), 7.48 (m, 6H).

(2*S*,4*S*)-2-Hydroxymethyl-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (4)

리튬보로하이드라이드 4.79 g(0.22 mol)에 테트라하이드로퓨란 200 mL를 적가하여 0 °C로 냉각시킨 후, (2*S*,4*S*)-4-트리틸티오-1-(알릴옥시카르보닐)피롤리딘-2-카르복시엑시드 메틸에스터(3) 107.3 g(0.22 mol)를 테트라하이드로퓨란 700 mL로 용해하여 냉각되어진 용액에 천천히 적가하여 25시간을 실온으로 교반 반응시킨다. 물 200 mL, 1*N*-염산 200 mL와 에틸 아세테이트 800 mL로 반응물을 묽히고, 유기층을 분리하여 무수 소듐 설페이트로 건조, 여과하여 용매를 감압농축시킨다. 크로

마토그래피로 분리회수하여 노란색 오일형태의 정제된 화합물(4) 79.4 g(78.5%)을 얻었다. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.98 (m, 1H), 2.75-2.82 (m, 2H), 3.01 (m, 1H), 3.55 (bs, 2H), 3.78 (m, 1H), 4.55 (d, 3H, $J=5.9$ Hz), 5.25 (m, 3H), 5.90 (m, 1H), 7.27 (m, 9H), 7.47 (m, 6H).

(2S,4S)-2-Mesyloxymethyl-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (5)

(2S,4S)-2-하이드록시메틸-4-트리틸티오-1-(알릴옥시카르보닐)피롤리딘(4) 68.9 g(0.15 mol)과 트리에틸아민 24.2 mL(0.18 mol)를 정제된 메틸렌 클로라이드 400 mL로 용해하여 0 $^\circ\text{C}$ 로 냉각시킨 후, 메탄설포닐클로라이드 20.6 g(0.18 mol)을 천천히 적가한다. 이를 0 $^\circ\text{C}$ 로 1시간을 교반하고 메틸렌 클로라이드 200 mL와 물 200 mL를 이용하여 유기층을 추출하고, 10% 소듐바이카르보네이트 용액 300 mL로 씻어준다. 유기층을 무수 소듐 설페이트로 건조, 여과하여 용매를 감압농축한 후, 크로마토그래피로 분리회수하여 노란색 오일형태의 정제된 화합물(5) 75.5 g(93.6%)을 얻었다. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.91 (bs, 1H), 2.11 (bs, 1H), 2.75-2.82 (bs, 2H), 2.99 (s, 3H), 3.95 (bs, 1H), 4.01 (m, 1H), 4.22 (bs, 1H), 4.55 (bs, 3H), 5.31 (m, 2H), 5.91 (m, 1H), 7.27 (m, 9H), 7.48 (m, 6H).

(2S,4S)-2-Cyanomethyl-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (6)

(2S,4S)-2-메실록시메틸-4-트리틸티오-1-(알릴옥시카르보닐)피롤리딘(5) 59.2 g(0.11 mol)과 소듐 시아나이드 10.8 g(0.22 mol)을 다이메틸 설펝사이드 300 mL로 용해하여 75 $^\circ\text{C}$ 로 5시간 반응시킨다. 차가운 물을 붓고 에틸 아세테이트 300 mL로 두 번 추출하여 과량의 물로 유기층에 있는 다이메틸 설펝사이드를 제거한다. 유기 용매를 무수 소듐 설페이트로 건조, 여과하여 용매를 감압농축한 후, 크로마토그래피로 분리회수하여 노란색 오일형태의 정제된 화합물(6) 45.9 g(89.1%)을 얻었다. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.88 (m, 1H), 2.19 (m, 1H), 2.82 (d, 2H), 2.85-3.01 (m, 2H), 3.88 (m, 1H), 4.55 (d, 2H, $J=5.9$ Hz), 5.29 (m, 2H), 5.88 (m, 1H), 7.27 (m, 9H), 7.47 (m, 6H).

(2S,4S)-2-[(5-Ethoxycarbonyl)-1,2,4-oxadiazole-3-ylmethyl]-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (7)

화합물 6 (23.4 g, 0.05 mol)과 히드록시아민 하이드로클로라이드 (10.4 g, 0.15 mol)를 에탄올 (250 mL)에 적가한 후, 물 (70 mL)에 소듐카르보네이트 (15.9 g, 0.15 mol)를 용해시켜 이를 실온에서 천천히 적가한 후, 60 $^\circ\text{C}$ 로 20 시간을 가열 교반하고, 반응 완결 후, 물 (200 mL)로 반응물을 묽히고, 6N-염산 수용액으로 중성화한다. 에틸 아세테이트 (200 mL)로 추출하여 유기 용매를 회수 마그네슘 설페이트로 건조, 여과하여 용매를 감압 증류한 후, 더 이상의 정제 과정 없이 얻어진 혼

합물을 테트라 하이드로 푸란 (200 mL)로 용해시키고 에틸옥살릴 클로라이드 (5.60 mL, 0.05 mol)를 적가하여 2시간동안 가열 환류 시킨다. 반응 종결 후, 냉각하여주고 이 반응물에 10% 소듐바이카르보네이트 수용액을 적가한 후, 에틸 아세테이트 (200 mL)로 추출하여 유기 용매를 회수 마그네슘 설페이트로 건조시킨 후, 여과하여 용매를 감압 증류하고, 크로마토그래피로 정제하여 노란색의 고체 화합물 **7** (22.3 g, 76.5%)를 얻었다. ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.48 (t, 3H, $J=7.4$ Hz), 1.85 (bs, 1H), 2.16 (bs, 1H), 2.85-2.98 (bs, 3H), 3.55 (bs, 1H), 3.89 (bs, 1H), 4.01 (bs, 1H), 4.26-4.51 (bs, 4H), 5.31 (m, 2H), 5.91 (m, 1H), 7.26 (m, 9H), 7.47 (m, 6H).

(2S,4S)-2-[(5-Carbamoyl)-1,2,4-oxadiazole-3-ylmethyl]-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (8c)

에탄올 (20 mL)에 화합물 **7** (1.17 g, 1.50 mmol)를 적가하고, 이 반응 용액에 암모니아수 (28%, 10 mL)를 적가하여 60 °C로 3 시간동안 가열 교반 시킨다. 반응물을 6N-염산 수용액으로 중성화하고 에틸 아세테이트 (50 mL)로 두 번 추출하고, 유기 용매를 회수하여 무수 소듐설페이트로 건조, 여과하여 유기 용매를 감압증류 시킨다. 잔여물을 크로마토 그래피로 정제하여 노란색의 오일상인 화합물 **8c** (0.85 g, 78.1%)를 얻었다. ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.82 (bs, 1H), 2.11 (bs, 1H), 2.71-2.91 (bs, 3H), 3.25 (bs, 2H), 4.01 (bs, 1H), 4.51 (bs, 2H), 5.35 (m, 2H), 5.90 (m, 1H), 6.55 (bs, 1H), 6.78 (bs, 1H), 7.26 (m, 9H), 7.47 (m, 6H).

(2S,4S)-2-[(5-Methylcarbamoyl)-1,2,4-oxadiazole-3-ylmethyl]-4-tritylthio-1-(allyl-oxycarbonyl)pyrrolidine (8d)

수율 82.5%. ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.80 (bs, 1H), 2.11 (bs, 1H), 2.71-2.94 (bs, 3H), 3.03 (s, 3H), 3.25 (bs, 2H), 4.01 (bs, 1H), 4.53 (bs, 2H), 5.35 (m, 2H), 5.91 (m, 1H), 6.59 (bs, 1H), 7.26 (m, 9H), 7.47 (m, 6H).

(2S,4S)-2-[(5-N-Dimethylcarbamoyl)-1,2,4-oxadiazole-3-ylmethyl]-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (8e)

수율 77.8%. ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.77 (bs, 1H), 2.16 (bs, 1H), 2.73-2.91 (bs, 3H), 3.01 (s, 6H), 3.29 (bs, 2H), 4.11 (bs, 1H), 4.55 (bs, 2H), 5.35 (m, 2H), 5.91 (m, 1H), 6.39 (bs, 1H), 7.25 (m, 9H), 7.46 (m, 6H).

(2S,4S)-2-[(5-(2-Hydroxyethylcarbamoyl)-1,2,4-oxadiazole-3-ylmethyl)-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (8f)

수율 73.5%. ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.84 (bs, 1H), 2.28 (bs, 1H), 2.54 (m, 1H), 2.60-2.72 (bs, 3H), 3.55-3.68 (t, 2H, $J=7.0$ Hz), 3.77-3.85 (m, 3H), 34.05 (bs, 1H),

4.50 (bs, 2H), 5.25 (m, 3H), 5.86 (m, 1H), 7.24 (m, 9H), 7.46 (m, 6H).

(2S,4S)-2-[(5-(3-Hydroxypropylcarbamoyl)-1,2,4-oxadiazole-3-ylmethyl)-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (8g)

수율 80.7%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.80 (bs, 1H), 1.95 (bs, 2H), 2.06 (bs, 1H), 2.65-2.79 (bs, 4H), 3.01 (bs, 1H), 3.22 (bs, 1H), 3.55 (bs, 2H), 3.78 (bs, 2H), 3.94 (bs, 1H), 4.55 (bs, 2H), 5.25 (m, 2H), 5.96 (m, 1H), 7.23 (m, 9H), 7.46 (m, 6H).

(2S,4S)-2-[(5-(2,3-Dihydroxypropylcarbamoyl)-1,2,4-oxadiazole-3-ylmethyl)-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (8h)

수율 80.7%. ¹H-NMR (CDCl₃) δ 1.75 (bs, 1H), 2.05 (bs, 1H), 2.62-2.87 (bs, 2H), 3.01-3.38 (bs, 4H), 3.55 (bs, 2H), 3.78 (bs, 2H), 3.94 (bs, 1H), 4.55 (bs, 2H), 5.25 (m, 2H), 5.92 (m, 1H), 7.23 (m, 9H), 7.44 (m, 6H).

(2S,4S)-2-[(5-(Hydroxycarbamoyl)-1,2,4-oxadiazole-3-ylmethyl)-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (8i)

수율 76.2%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.70 (bs, 1H), 2.19 (bs, 1H), 2.27 (m, 1H), 2.63-2.90 (bs, 3H), 3.83 (bs, 1H), 4.49 (bs, 2H), 5.26 (m, 3H), 5.88 (m, 1H), 7.27 (m, 9H), 7.47 (m, 6H).

(2S,4S)-2-[(5-(2-Aminoethylcarbamoyl)-1,2,4-oxadiazole-3-ylmethyl)-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (8j)

수율 75.1%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.80 (bs, 1H), 1.98 (bs, 2H), 2.05 (bs, 1H), 2.63-2.75 (bs, 3H), 3.04 (bs, 1H), 3.22 (bs, 1H), 3.58 (bs, 2H), 3.75 (bs, 2H), 3.98 (bs, 1H), 4.55 (bs, 2H), 5.25 (m, 2H), 5.90 (m, 1H), 7.23 (m, 9H), 7.46 (m, 6H).

(2S,4S)-2-[(5-Hydroxymethyl)-1,2,4-oxadiazole-3-ylmethyl)-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (8b)

에탄올 (50 mL)와 테트라하이드로 푸란 (50 mL)의 혼합용액에 화합물 **7** (11.67 g, 20.0 mmol)를 용해시키고, 0 °C로 냉각하여 소름 보로하이드라이드 (1.14 g 30.0 mmol)를 천천히 적가 한다. 1시간 후, 물 (40 mL)로 묽혀주고, 1N-염산 수용액으로 중성화한 후, 에틸 아세테이트 (100 mL)로 추출한다. 얻어진 유기층을 무수 소듐설페이트로 건조, 여과하여 유기 용매를 감압증류시킨다. 잔여물을 크로마토 그래피로 정제하여 노란색의 오일상인 화합물 **8b** (7.39 g, 66.5%)를 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.72 (bs, 1H), 2.12 (bs, 1H), 2.75-2.99 (bs, 5H), 3.25 (bs, 2H), 4.05 (bs, 1H), 4.53 (bs, 2H), 5.35 (m, 2H), 5.90 (m, 1H), 7.26 (m, 9H), 7.47 (m, 6H)

(2S,4S)-2-[(5-Ethoxycarbonyl)-1,2,4-oxadiazole-3-ylmethyl]-4-thiol-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (9a)

화합물 **7** (0.58 g, 1.0 mmol)를 메틸렌 클로라이드 (2 mL)로 용해하여 0°C로 냉각시키고, 트리에틸실란 (0.13 g, 1.1 mmol)과 트리플루오로아세트산 (2 mL)를 적가하여 30분동안 교반 시킨다. 감압으로 용매를 제거하며, 에틸 아세테이트 (10 mL)를 붓고 10% 소듐바이카르보네이트로 중성화한 후, 유기층을 추출한다. 유기용매를 무수 소듐 설페이트로 건조, 여과하고 용매를 감압농축한 후, 크로마토그래피로 정제된 **9a** (0.24 g, 72.0%)의 노란색 오일을 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.41 (t, 3H, J=7.4 Hz), 1.80 (bs, 1H), 1.94 (bs, 1H), 2.55-2.72 (bs, 2H), 3.01-3.35 (bs, 2H), 3.55 (bs, 1H), 3.89 (bs, 1H), 4.01 (bs, 1H), 4.26-4.51 (bs, 4H), 5.31 (m, 2H), 5.91 (m, 1H).

(2S,4S)-2-[(5-Hydroxymethyl)-1,2,4-oxadiazole-3-ylmethyl]-4-thiol-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (9b)

수득율은 38.7%, ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.72 (bs, 1H), 2.12 (bs, 1H), 2.75-2.99 (bs, 5H), 3.25 (bs, 2H), 4.05 (bs, 1H), 4.53 (bs, 2H), 5.35 (m, 2H), 5.90 (m, 1H).

(2S,4S)-2-[(5-Carbamoyl)-1,2,4-oxadiazole-3-ylmethyl]-4-thiol-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (9c)

수득율은 35.4%, ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.80 (bs, 1H), 2.11 (bs, 1H), 2.71-2.91 (bs, 3H), 3.25 (bs, 2H), 4.01 (bs, 1H), 4.56 (bs, 2H), 5.35 (m, 2H), 5.93 (m, 1H), 6.55 (bs, 1H), 6.78 (bs, 1H).

(2S,4S)-2-[(5-Methylcarbamoyl)-1,2,4-oxadiazole-3-ylmethyl]-4-thiol-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (9d)

수득율은 48.5%, ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.77 (bs, 1H), 2.11 (bs, 1H), 2.71-2.94 (bs, 3H), 3.03 (s, 3H), 3.25 (bs, 2H), 4.05 (bs, 1H), 4.59 (bs, 2H), 5.35 (m, 2H), 5.88 (m, 1H), 6.59 (bs, 1H).

(2S,4S)-2-[(5-N-Dimethylcarbamoyl)-1,2,4-oxadiazole-3-ylmethyl]-4-thiol-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (9e)

수득율은 41.4%, ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.78 (bs, 1H), 2.11 (bs, 1H), 2.75-2.96 (bs, 3H), 3.01 (s, 6H), 3.29 (bs, 2H), 4.11 (bs, 1H), 4.55 (bs, 2H), 5.35 (m, 2H), 5.86 (m, 1H), 6.39 (bs, 1H).

(2S,4S)-2-[(5-(2-Hydroxyethylcarbamoyl)-1,2,4-oxadiazole-3-ylmethyl)-4-thiol-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (9f)

수득율은 38.1%, ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.84 (bs, 1H), 2.28 (bs, 1H), 2.54 (m, 1H), 2.60-2.72 (bs, 3H), 3.55-3.68 (t, 2H, J=7.0 Hz), 3.77-3.85 (m, 3H), 4.05 (bs, 1H), 4.50 (bs, 2H), 5.25 (m, 3H), 5.86 (m, 1H).

(2S,4S)-2-[(5-(3-Hydroxypropylcarbamoyl)-1,2,4-oxadiazole-3-ylmethyl)-4-thiol-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (9g)

수득율은 36.7%, ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.84 (bs, 1H), 1.99 (bs, 2H), 2.09 (bs, 1H), 2.65-2.79 (bs, 4H), 3.05 (bs, 1H), 3.22 (bs, 1H), 3.55 (bs, 2H), 3.78 (bs, 2H), 3.94 (bs, 1H), 4.55 (bs, 2H), 5.25 (m, 2H), 5.90 (m, 1H).

(2S,4S)-2-[(5-Dihydroxypropylcarbamoyl)-1,2,4-oxadiazole-3-ylmethyl)-4-thiol-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (9h)

수득율은 41.0%, ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.75 (bs, 1H), 2.05 (bs, 1H), 2.62-2.87 (bs, 2H), 3.01-3.38 (bs, 4H), 3.55 (bs, 2H), 3.78 (bs, 2H), 3.94 (bs, 1H), 4.55 (bs, 2H), 5.25 (m, 2H), 5.92 (m, 1H).

(2S,4S)-2-[(5-(Hydroxycarbamoyl)-1,2,4-oxadiazole-3-ylmethyl)-4-thiol-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (9i)

수득율은 38.2%, ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.70 (bs, 1H), 2.19 (bs, 1H), 2.27 (m, 1H), 2.63-2.90 (bs, 3H), 3.83 (bs, 1H), 4.49 (bs, 2H), 5.26 (m, 3H), 5.88 (m, 1H).

(2S,4S)-2-[(5-(2-Aminoethylcarbamoyl)-1,2,4-oxadiazole-3-ylmethyl)-4-thiol-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (9j)

수득율은 45.1%, ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.82 (bs, 1H), 2.01 (bs, 2H), 2.05 (bs, 1H), 2.63-2.75 (bs, 3H), 3.04 (bs, 1H), 3.25 (bs, 1H), 3.58 (bs, 2H), 3.75 (bs, 2H), 3.98 (bs, 1H), 4.55 (bs, 2H), 5.25 (m, 2H), 5.87 (m, 1H).

p-Allyl (1R,5S,6S)-6-[(1R)-hydroxyethyl]-3-[5-(4-ethoxycarbonyl-1,2,4-oxadiazole-2-ylmethyl)-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methyl-carbapen-2-em-3-carboxylate (13a)

p-알릴 (1R,5S,6S)-3-(다이펜닐포스포릴록시)-6-[(R)-1-하이드록시에틸]-1-메틸카바펜-2-엠-3-카르복실레이트 **11** (0.55 g, 0.91 mmol) 를 아세트나이트릴 (50 mL)로 용해시켜 0 °C로 냉각시킨다. 다이이소프로필에틸아민 (0.13 g, 1.0 mmol)를 적가하고, 아세트나이트릴 (10 mL)로 화합물 **9a** (0.41 g, 0.91 mmol)를 용해하여

적가한 후, 2 시간동안 교반하여주고, 반응종결시 용매를 감압증류로 제거하고 에틸 아세테이트 (40 mL)로 용해하여 물 (30 mL)로 씻어준다. 유기층을 얻어 무수 마그네슘 설페이트로 건조, 여과하고 용매를 감압농축한 후, 크로마토그래피로 정제된 **13a** (0.38 g, 70.7%)를 얻었다. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 1.25 (d, 3H, $J=6.6$ Hz), 1.31-1.37 (dd, 6H, $J=6.6$ Hz), 1.98 (bs, 1H), 2.14 (m, 1H), 2.46 (m, 1H), 2.95 (m, 2H), 3.45 (d, 2H, $J=9.6$ Hz), 4.01-4.18 (m, 4H), 4.43 (bs, 1H), 5.11-5.55 (m, 2H), 7.09 (s, 1H), 7.23 (d, 2H, $J=7.3$ Hz), 7.45 (d, 2H, $J=7.3$ Hz), 8.21 (d, 4H, $J=7.3$ Hz). -IR (KBr): 3410 (OH), 3230 (NH), 1720, 1705, 1660 (C=O) cm^{-1} .

화합물(**13b**) 내지 화합물(**13j**)는 상기 화합물(**13a**)의 합성방법과 같은 방법으로 처리하여 합성되었다.

(1R,5S,6S)-6-[(1R)-Hydroxyethyl]-3-[5-(4-ethoxycarbonyl-1,2,4-oxadiazol-2-ylmethyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (14a)

화합물 **13a** (0.24 g, 4.06 mmol)과 Pd/C (10%) (0.1 g)를 테트라 하이드로 피란 용매와 포스페이트 완충용액 (pH=7) (1:1, 20 mL)의 혼합물에 용해시키고, 50 psi에서 1시간 동안 수소화반응을 시킨다. 반응종결 후, 이를 여과하고 유기 용매를 감압증류하며, 에틸 에테르 (2x20 mL)로 씻어주고 물층을 얻는다. 물층을 합하여 Diaion HP-20 column으로 정제하고, UV를 이용하여 298 nm인 부분을 모아서 동결건조시켜 흰색의 최종 화합물 **14a** (0.046 g, 24.1%)을 얻었다. $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 1.06 (d, 3H, $J=6.5$ Hz), 1.15 (d, 3H, $J=5.7$ Hz), 1.29 (t, 3H, $J=6.1$ Hz), 2.04 (bs, 1H), 2.86 (m, 1H), 3.01-3.13 (bs, 2H), 3.53 (bs, 2H), 3.70 (bs, 1H), 4.10 (m, 2H), 4.15 (q, 2H, $J=6.1$ Hz), 4.51 (bs, 1H), 7.11 (s, 1H). -IR (KBr): 3470 (OH), 3230 (NH), 1710, 1690, 1660 (C=O) cm^{-1} .

(1R,5S,6S)-6-[(1R)-Hydroxyethyl]-3-[5-(4-hydroxymethyl-1,2,4-oxadiazol-2-ylmethyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (14b)

수율 25.0%. -UV λ_{max} : 298nm. $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 1.11 (d, 3H, $J=6.5$ Hz), 1.19 (d, 3H, $J=6.2$ Hz), 1.85 (m, 1H), 2.46-2.67 (bs, 2H), 2.90 (m, 1H), 3.01-3.13 (bs, 2H), 3.20-3.30 (m, 3H), 3.53 (dd, 1H, $J=5.4$ and 5.8 Hz), 3.97 (bs, 1H), 4.10 (bs, 2H), 4.43 (m, 1H) -IR (KBr): 3510 (OH), 3300 (NH), 2990, 1710, 1690 (C=O) cm^{-1} .

(1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-Hydroxyethyl]-3-[5-(4-carbamoyl-1,2,4-oxadiazol-2-ylmethyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (14c)

수율 31.2%. -UV λ_{max} : 298 nm. ^1H NMR (D_2O) δ 1.08 (d, 3H, $J=7.2$ Hz), 1.17 (d, 3H, $J=6.3$ Hz), 1.71 (m, 1H), 2.55-2.66 (m, 2H), 3.05 (dd, 1H, $J=6.9$ and 6.9 Hz), 3.23 (t, 1H, $J=7.5$ Hz), 3.32 (bs, 2H), 3.55 (q, 1H, $J=5.9$ Hz), 3.75 (t, 1H, $J=7.1$ Hz), 4.11 (bs, 2H), 4.43 (m, 1H) -IR (KBr): 3480(OH), 3260(NH), 1670 (C=O) cm^{-1} .

(1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-Hydroxyethyl]-3-[5-(4-methylcarbamoyl-1,2,4-oxadiazol-2-yl-methyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (14d)

수율 34.3%. -UV λ_{max} : 298 nm. ^1H NMR (D_2O) δ 1.07 (d, 3H, $J=6.9$ Hz), 1.16 (d, 3H, $J=6.4$ Hz), 1.69 (m, 1H), 2.55-2.72 (m, 2H), 2.88 (s, 3H), 3.05 (dd, 1H, $J=6.9$ and 6.9 Hz), 3.25 (t, 1H, $J=7.5$ Hz), 3.34 (bs, 1H), 3.57 (q, 1H, $J=5.9$ Hz), 3.75 (t, 1H, $J=7.1$ Hz), 4.11 (bs, 3H), 4.44 (m, 1H) -IR (KBr): 3540 (OH), 3270 (NH), 1705, 1665 (C=O) cm^{-1} .

(1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-Hydroxyethyl]-3-[5-(4-*N*-dimethylcarbamoyl-1,2,4-oxadiazol-2-yl-methyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (14e)

수율 34.1%. -UV λ_{max} : 296 nm. ^1H NMR (D_2O) δ 1.07 (d, 3H, $J=6.9$ Hz), 1.16 (d, 3H, $J=6.4$ Hz), 1.79 (m, 1H), 2.65-2.78 (m, 2H), 2.92 and 2.96 (2s, 6H), 3.09 (dd, 1H, $J=6.7$ and 6.7 Hz), 3.27 (t, 1H, $J=7.5$ Hz), 3.34 (bs, 1H), 3.57 (q, 1H, $J=5.9$ Hz), 3.75 (t, 1H, $J=7.1$ Hz), 3.99 (m, 1H), 4.11 (bs, 2H), 4.44 (m, 1H). -IR (KBr): 3510(OH), 3300(NH), 1710, 1690 (C=O) cm^{-1} .

(1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-Hydroxyethyl]-3-[5-(4-(2-hydroxyethylcarbamoyl-1,2,4-oxadiazol-2-ylmethyl)pyrrolidin-3-ylthio)-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (14f)

수율 23.8%. -UV λ_{max} : 298 nm. ^1H NMR (D_2O) δ 1.09 (d, 3H, $J=6.5$ Hz), 1.16 (d, 3H, $J=6.0$ Hz), 1.68 (m, 1H), 1.88 (m, 1H), 2.81 (m, 1H), 3.23-3.36 (bs, 2H), 3.57-3.64 (m, 2H), 3.67-3.77 (m, 2H), 3.81 (t, 2H, $J=7.1$ Hz), 3.98 (m, 2H), 4.09 (m, 2H), 4.44 (bs, 1H). -IR (KBr): 3510 (OH), 3270 (NH), 1710, 1680 (C=O) cm^{-1} .

(1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-Hydroxyethyl]-3-[5-(4-(3-hydroxypropylcarbamoyl)-1,2,4-oxadiazol-2-ylmethyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (14g)

수율 26.9%. -UV λ_{max} : 298 nm. $^1\text{H-NMR}$ (D_2O) δ (1.09 (d, 3H, $J=6.5$ Hz), 1.16 (d, 3H, $J=6.0$ Hz), 1.55-1.79 (bs, 3H), 1.89 (m, 1H), 2.81 (m, 1H), 3.21-3.39 (bs, 2H), 3.57-3.67 (m, 2H), 3.69-3.79 (m, 2H), 3.81 (t, 2H, $J=7.1$ Hz), 3.98 (m, 2H), 4.09 (m, 2H), 4.45 (bs, 1H). -IR (KBr): 3510 (OH), 3250 (NH), 1715, 1685 (C=O) cm^{-1} .

(1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-Hydroxyethyl]-3-[5-(4-(2,3-dihydroxypropylcarbamoyl)-1,2,4-oxa-diazol-2-ylmethyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (14h)

수율 16.5%. -UV λ_{max} : 298 nm. $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 1.11 (d, 3H, $J=6.5$ Hz), 1.17 (d, 3H, $J=6.0$ Hz), 1.69 (m, 1H), 1.89 (m, 1H), 2.10 (m, 1H), 2.81 (m, 1H), 3.23-3.36 (bs, 2H), 3.47-3.58 (m, 2H), 3.61-3.75 (m, 2H), 3.80 (t, 2H, $J=7.1$ Hz), 3.98 (m, 2H), 4.09 (m, 2H), 4.43 (bs, 1H). -IR (KBr): 3500 (OH), 3270 (NH), 1705, 1660 (C=O) cm^{-1} .

(1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-Hydroxyethyl]-3-[5-(4-hydroxycarbamoyl-1,2,4-oxadiazol-2-yl-methyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (14i)

수율 23.2%. -UV λ_{max} : 298 nm. $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 1.12 (d, 3H, $J=7.0$ Hz), 1.19 (d, 3H, $J=6.3$ Hz), 1.71 (m, 1H), 2.55-2.66 (m, 2H), 3.05 (dd, 1H, $J=6.9$ and 6.9 Hz), 3.23 (t, 1H, $J=7.5$ Hz), 3.32 (bs, 2H), 3.55 (q, 1H, $J=5.9$ Hz), 3.75 (t, 1H, $J=7.1$ Hz), 4.11 (bs, 2H), 4.43 (m, 1H) -IR (KBr): 3550 (OH), 3260 (NH), 1670 (C=O) cm^{-1} .

(1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-Hydroxyethyl]-3-[5-(4-(2-aminoethylcarbamoyl)-1,2,4-oxadiazol-2-ylmethyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (14j)

수율 27.2%. -UV λ_{max} : 298 nm. $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 1.08 (d, 3H, $J=6.5$ Hz), 1.14 (d, 3H, $J=6.0$ Hz), 1.69 (m, 1H), 1.89 (m, 1H), 2.71 (m, 1H), 3.22-3.39 (bs, 2H), 3.57-3.64 (m, 2H), 3.67-3.77 (m, 2H), 3.81 (t, 2H, $J=7.1$ Hz), 3.98 (m, 2H), 4.09 (m, 2H), 4.45 (bs, 1H). -IR (KBr): 3550 (OH, NH_2), 3270 (NH), 1710, 1680 (C=O) cm^{-1} .

(2S,4S)-2-(N-Hydroxyacetamidine)-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)-pyrrolidine (16)

(2S,4S)-2-시아노메틸-4-트리틸티오-1-(알릴옥시카르보닐)피롤리딘 (**6**) (23.4 g, 0.05 mol)과 하이드록시아민 염산 (10.4 g, 0.15 mol)를 에탄올 (250 mL)로 용해시키고, 소듐카르보네이트 (15.9 g, 0.15 mol)를 물 (70 mL)로 용해시켜 실온에서 적가한 후, 60 °C 로 20시간을 반응시킨다. 반응종결 후, 물 (200 mL)를 적가하고, 6N-염산 수용액으로 중성화한다. 이를 에틸 아세테이트 (300 mL)로 추출하며, 무수 소듐 설페이트로 건조, 여과하여 용매를 감압농축한 후, 크로마토그래피로 정제된 화합물 **16** (19.3 g, 77.1%)의 노란색 오일을 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.81 (bs, 1H), 2.19 (m, 2H), 2.73-2.82 (bs, 3H), 3.88 (bs, 1H), 4.55 (d, 2H, J=5.9 Hz), 4.71 (bs, 1H), 5.22 (m, 2H), 5.88 (m, 1H), 7.23 (m, 9H), 7.47 (m, 6H).

(2S,4S)-2-(3-Allyloxycarbonylamino-2-hydroxyimino)ethyl-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (17a)

(2S,4S)-2-(N-하이드록시아세트아미딘)-4-트리틸티오-1-(알릴옥시카르보닐)피롤리딘 (**16**) (1.00 g, 2.0 mmol)과 트리에틸아민 (0.30 mL, 2.2 mmol)를 메틸렌 클로라이드 (20 mL)에 용해하여 0°C로 냉각시킨 후, 알릴 클로로포르메이트 (0.27 g, 2.2 mmol)를 천천히 적가한다. 반응종결시 물 (200 mL)와 메틸렌 클로라이드(100 mL)를 붓고 유기층을 분리한다. 유기용매를 무수 소듐 설페이트로 건조, 여과하여 용매를 감압농축한 후, 크로마토그래피로 정제된 화합물 **17a** (1.03 g, 88.3%)의 노란색 오일을 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.82 (bs, 2H), 2.19 (m, 1H), 2.24 (m, 1H), 2.63-2.85 (bs, 3H), 3.88 (bs, 1H), 4.55 (bs, 2H), 4.72 (d, 2H, J=5.9 Hz), 5.20-5.44 (m, 4H), 5.85-5.98 (m, 2H), 7.23 (m, 9H), 7.47 (m, 6H).

(2S,4S)-2-(3-Acetylamino-2-hydroxyimino)ethyl-4-tritylthio-1-(allyloxy-carbonyl)pyrrolidine (17b)

(2S,4S)-2-(N-하이드록시아세트아미딘)-4-트리틸티오-1-(알릴옥시카르보닐)피롤리딘 (**16**) (1.00 g, 2.0 mmol)과 트리에틸아민 (0.26 g, 2.6 mmol)를 메틸렌 클로라이드 (10 mL)로 용해하여 0°C로 냉각시킨 후, 아세틸 클로라이드 (0.17 g, 2.2 mmol)를 천천히 적가한다. 반응 종결시 메틸렌 클로라이드 (30 mL)와 물 (30 mL)를 적가하여 유기층을 분리한 후, 무수 소듐 설페이트로 건조, 여과하여 용매를 감압농축한 후, 크로마토그래피로 정제된 화합물 **17b** (0.89 g, 82.5%)의 노란색 오일을 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.82 (bs, 1H), 2.03 (s, 3H), 2.19 (m, 1H), 2.54 (m, 1H), 2.63-2.85 (bs, 3H), 3.88 (bs, 1H), 4.55 (bs, 2H), 5.25 (m, 3H), 5.90 (m, 1H), 7.23 (m, 9H), 7.47 (m, 6H).

(2S,4S)-2-[2-(Cyclopropanecarbonylamino)-2-hydroxyimino]ethyl-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (17c)

(2S,4S)-2-(N-하이드록시아세트아미딘)-4-트리틸티오-1-(알릴옥시카르보닐)피롤리딘 (16) (1.00 g, 2.0 mmol)과 트리에틸아민 (0.26 g, 2.6 mmol), 사이클로프로판 카르보닐 클로라이드 (0.23 g, 2.19 mmol)를 사용하여 17b의 합성법과 같은 방법으로 17c (1.0 g, 88%)를 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.82 (bs, 3H), 1.12 (bs, 2H), 1.82 (bs, 1H), 2.29 (m, 1H), 2.54 (m, 1H), 2.63-2.89 (bs, 3H), 3.83 (bs, 1H), 4.55 (bs, 2H), 5.25-5.34 (m, 3H), 5.88 (m, 1H), 7.24 (m, 9H), 7.45 (m, 6H).

(2S,4S)-2-(2-Hydroxyimino-2-methoxycarbonylamino)ethyl-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (17d)

(2S,4S)-2-(N-하이드록시아세트아미딘)-4-트리틸티오-1-(알릴옥시카르보닐)피롤리딘 (16) (1.00 g, 2.0 mmol)과 트리에틸아민 (0.26 g, 2.6 mmol)를 메틸렌 클로라이드 (10 mL)로 용해하여 0 °C로 냉각시킨 후, 4-나이트로페닐 클로로포르메이트 (0.44 g, 2.2 mmol)를 천천히 적가하여 1시간 동안 교반 한다. 반응 종결 후, 물 (30 mL), 메틸렌 클로라이드 (50 mL) 붓고 유기층을 분리한다. 유기 용매를 무수 소듐 설페이트로 건조, 여과하여 용매를 감압농축한 후, 더 이상의 정제 없이 메탄올 (10 mL)로 65 °C로 3시간을 반응시킨다. 과량의 메탄올을 감압증류로 제거하고, 에틸 아세테이트 (60 mL)로 추출하여 유기층을 무수 소듐 설페이트로 건조, 여과하고 용매를 감압농축한 후, 크로마토그래피로 정제된 17d (0.93 g, 83.5%)의 노란색 오일을 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.84 (bs, 1H), 2.28 (bs, 1H), 2.54 (m, 1H), 2.60-2.72 (bs, 3H), 3.85 (bs, 1H), 3.90 (s, 3H), 4.50 (bs, 2H), 5.25 (m, 3H), 5.86 (m, 1H), 7.24 (m, 9H), 7.46 (m, 6H).

(2S,4S)-2-(3-Aminocarbonylamino-2-hydroxyimino)ethyl-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (17e)

(2S,4S)-2-(N-하이드록시아세트아미딘)-4-트리틸티오-1-(알릴옥시카르보닐)피롤리딘 (16) (1.00 g, 2.0 mmol)과 트리에틸아민 (0.30 mL, 2.2 mmol)과 4-나이트로페닐 클로로포르메이트 (0.44 g, 2.2 mmol)로 17d와 같은 방법으로 합성하고, 에탄올 (20 mL)와 암모니아수 (10 mL)로 60°C에서 3시간을 반응시키고, 6N-염산 수용액으로 중성화하여 에틸 아세테이트 (100 mL)로 추출하여, 무수 소듐 설페이트로 건조, 여과하고 용매를 감압농축한 후, 크로마토그래피로 정제된 17e (0.89 g, 81.5%)의 노란색 오일을 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.82 (bs, 2H), 2.19 (m, 1H), 2.27 (m, 1H), 2.63-2.99 (bs, 3H), 3.84 (bs, 1H), 4.55 (bs, 2H), 4.72 (bs, 2H), 5.26 (m, 2H), 5.85 (m, 1H), 7.24 (m, 9H), 7.45 (m, 6H).

(2S,4S)-2-(3-Methylaminocarbonylamino-2-hydroxyimino)ethyl-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (17f)

(2S,4S)-2-(N-하이드록시아세트아미딘)-4-트리틸티오-1-(알릴옥시카르보닐)피롤리딘 (**16**) (1.00 g, 2.0 mmol)과 트리에틸아민 (0.26 g, 2.6 mmol)과 4-나이트로페닐 클로로포르메이트 (0.44 g, 2.2 mmol)로 **17d**와 같은 방법으로 합성하고, 2M 메탄올 용액 메틸아민 (0.074 g, 2.4mmol)하여 정제된 **17f** (0.85 g, 76.2%)의 노란색 오일을 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.70 (bs, 1H), 2.19 (bs, 1H), 2.27 (m, 1H), 2.63-2.90 (bs, 3H), 2.98 (s, 3H), 3.83 (bs, 1H), 4.49 (bs, 2H), 5.26 (m, 3H), 5.88 (m, 1H), 6.44 (bs, 1H), 7.27 (m, 9H), 7.47 (m, 6H).

(2S,4S)-2-(3,3-Dimethylaminocarbonylamino-2-hydroxyimino)ethyl-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (17g)

(2S,4S)-2-(N-하이드록시아세트아미딘)-4-트리틸티오-1-(알릴옥시카르보닐)피롤리딘 (**16**) (1.00 g, 2.0 mmol)과 트리에틸아민 (0.40 g, 4.0 mmol), 다이메틸카르보닐 클로라이드 (0.39 g, 3.59 mmol)를 사용하여 **17b**의 합성법과 같은 방법으로 **17g** (0.86 g, 75.1%)를 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.87 (bs, 1H), 2.18 (m, 1H), 2.47 (m, 1H), 2.63-2.89 (bs, 3H), 3.01 (s, 6H), 3.84 (bs, 1H), 4.55 (bs, 2H), 5.04 (bs, 1H), 5.26 (m, 2H), 5.85 (m, 1H), 7.24 (m, 9H), 7.45 (m, 6H).

(2S,4S)-2-[3-(2-Hydroxyethylcarbonylamino)-2-hydroxyimino]ethyl-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (17h)

(2S,4S)-2-(N-하이드록시아세트아미딘)-4-트리틸티오-1-(알릴옥시카르보닐)피롤리딘 (**16**) (1.00 g, 2.0 mmol)과 트리에틸아민 (0.26 g, 2.6 mmol)과 4-나이트로페닐 클로로포르메이트 (0.44 g, 2.2 mmol)를 **17d**와 같은 방법으로 합성하고, 에탄올아민 (0.15 g, 2.4 mmol)과 트리에틸아민 (0.44 g, 2.2 mmol)를 에탄올 (10 mL)에 용해하여 반응함으로 **17d**와 같은 방법으로 합성하고 정제된 **17h** (0.88 g, 74.9%)의 노란색 오일을 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.85 (bs, 1H), 2.19 (m, 1H), 2.27 (m, 1H), 2.63-2.94 (bs, 3H), 2.99 (t, 3H, J=5.1 Hz), 3.55 (t, 3H, J=5.1 Hz), 3.84 (bs, 1H), 4.55 (bs, 2H), 5.16-5.33 (m, 3H), 5.85 (m, 1H), 7.24 (m, 9H), 7.45 (m, 6H).

(2S,4S)-2-{2-Hydroxyimino-[(morpholin-4-carbonyl)amino]ethyl-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (17i)

(2S,4S)-2-(N-하이드록시아세트아미딘)-4-트리틸티오-1-(알릴옥시카르보닐)피롤리딘 (**16**) (1.00 g, 2.0 mmol)과 트리에틸아민 (0.40 g, 4.0 mmol), 4-모포린카르보닐 클로라이드 (0.54 g, 3.59 mmol)를 사용하여 **17b**의 합성법과 같은 방법으로 **17i** (0.99 g, 80.7%)를 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.85 (bs, 1H), 2.25 (bs, 1H), 2.56

(m, 1H), 2.63-2.75 (bs, 3H), 3.50 (bs, 4H), 3.72 (bs, 4H), 3.84 (bs, 1H), 4.55 (bs, 2H), 5.05 (bs, 1H), 5.25 (m, 3H), 5.96 (m, 1H), 7.23 (m, 9H), 7.46 (m, 6H).

(2S,4S)-2-(3-Dimethylsulfamoylamino-2-hydroxyimino)ethyl-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (17j)

(2S,4S)-2-(N-하이드록시아세트아미딘)-4-트리틸티오-1-(알릴옥시카르보닐)피롤리딘 (16) (1.00 g, 2.0 mmol)과 트리에틸아민 (0.40 g, 4.0 mmol), 다이메틸설파모일 클로라이드 (0.52 g, 3.59 mmol)를 사용하여 8b의 합성법과 같은 방법으로 17j (0.98 g, 80.7%)를 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.85 (bs, 1H), 2.25 (bs, 1H), 2.56 (bs, 1H), 2.63-2.91 (bs, 3H), 3.02 (s, 6H), 3.79 (bs, 1H), 4.50 (bs, 2H), 5.25 (m, 3H), 5.95 (m, 1H), 7.24 (m, 9H), 7.46 (m, 6H).

(2S,4S)-2-(3-Allyloxycarbonylamino-sulfamoylamino-2-hydroxyimino)ethyl-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (17k)

알릴알콜 (0.13 mL, 2.2 mmol)를 정제된 메틸렌 클로라이드 (10 mL)에 용해하여 0 °C로 냉각시키고, 클로로설포닐 이소시아네이트 (0.19 mL, 2.2 mmol)를 적가한다. 1시간을 교반한 후, (2S,4S)-2-(N-하이드록시아세트아미딘)-4-트리틸티오-1-(알릴옥시카르보닐)피롤리딘 (16) (1.00 g, 2.0 mmol)를 메틸렌 클로라이드 (10 mL)에 용해하여 적가한다. 실온으로 3시간동안 교반하여 메틸렌 클로라이드 (40 mL)와 물 (40 mL)로 유기층을 추출하고, 무수 소듐 설페이트로 건조, 여과하고 용매를 감압농축한 후, 크로마토그래피로 정제된 17k (0.73 g, 58.2%)의 노란색 오일을 얻었다.

(2S,4S)-2-(3-Allyloxycarbonylamino-2-hydroxyimino)ethyl-4-mercaptan-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (18a)

화합물 17a (0.59 g, 1.0 mmol)를 메틸렌 클로라이드 (2 mL)로 용해하여 0 °C로 냉각시키고, 트리에틸실란 (0.13 g, 1.1 mmol)과 트리플루오로아세트익 액시드 (2 mL)를 적가하여 30분동안 교반 시킨다. 감압으로 용매를 제거하며, 에틸 아세테이트 (10 mL)를 붓고 10% 소듐바이카르보네이트로 중성화한 후, 유기층을 추출한다. 유기용매를 무수 소듐 설페이트로 건조, 여과하고 용매를 감압농축한 후, 크로마토그래피로 정제된 18a (0.21 g, 61.2%)의 노란색 오일을 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.89 (bs, 2H), 2.40-2.55 (bs, 3H), 2.84 (bs, 1H), 3.05-3.18 (bs, 1H), 4.01 (bs, 1H), 4.55 (bs, 2H), 4.72 (bs, 2H), 5.26-5.55 (m, 4H), 5.85 (m, 1H).

화합물 18b-k는 18a와 같은 방법으로 처리하여 17b-k로부터 얻었다.

(2S,4S)-2-(3-Acetylamino-2-hydroxyimino)ethyl-4-mercaptan-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (18b)

수율 53.7%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.89 (bs, 1H), 2.03 (s, 3H), 2.23 (m, 1H), 2.54 (m, 1H), 2.66-2.89 (bs, 3H), 4.01 (bs, 1H), 4.59 (bs, 2H), 5.26 (m, 3H), 5.91 (m, 1H).

(2S,4S)-2-[2-(Cyclopropanecarbonylamino)-2-hydroxyimino]ethyl-4-mercaptan-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (18c)

수율 47.1%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.87 (bs, 3H), 1.11(bs, 2H), 1.99 (bs, 1H), 2.29 (m, 1H), 2.54 (m, 1H), 2.63-2.89 (bs, 3H), 3.89 (bs, 1H), 4.55 (bs, 2H), 5.25-5.34 (m, 3H), 5.89 (m, 1H).

(2S,4S)-2-(2-Hydroxyimino-2-methoxycarbonylamino)ethyl-4-mercaptan-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (18d)

수율 51.4%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.01 (bs, 1H), 2.28 (bs, 1H), 2.56-2.89 (bs, 4H), 3.86 (bs, 1H), 3.90 (s, 3H), 4.50 (bs, 2H), 5.25 (m, 3H), 5.86 (m, 1H).

(2S,4S)-2-(3-Aminocarbonylamino-2-hydroxyimino)ethyl-4-mercaptan-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (18e)

수율 50.4%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.98 (bs, 1H), 2.19 (m, 1H), 2.27 (m, 1H), 2.60-2.95 (bs, 3H), 3.98 (bs, 1H), 4.55 (bs, 2H), 4.88 (bs, 2H), 5.29 (m, 2H), 5.88 (m, 1H).

(2S,4S)-2-(3-Methylaminocarbonylamino-2-hydroxyimino)ethyl-4-mercaptan-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (18f)

수율 49.6%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.98 (bs, 1H), 2.45 (bs, 1H), 2.60-2.96 (bs, 4H), 2.99 (s, 3H), 3.85 (bs, 1H), 4.49 (bs, 2H), 5.29 (m, 3H), 5.88 (m, 1H), 6.49 (bs, 1H).

(2S,4S)-2-(3,3-Dimethylaminocarbonylamino-2-hydroxyimino)ethyl-4-mercaptan-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (18g)

수율 49.3%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.95 (bs, 1H), 2.23 (m, 1H), 2.55 (m, 1H), 2.65-2.93 (bs, 3H), 3.01 (s, 6H), 3.84 (bs, 1H), 4.55 (bs, 2H), 5.04 (bs, 1H), 5.26 (m, 2H), 5.85 (m, 1H).

(2S,4S)-2-[3-(2-Hydroxyethylaminocarbonylamino)-2-hydroxyimino]ethyl-4-mercaptan-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (18h)

수율 39.7%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.88 (bs, 1H), 2.19 (m, 1H), 2.27 (m, 1H), 2.63-2.94 (bs, 3H), 3.05 (t, 3H, J=5.1 Hz), 3.59 (t, 3H, J=5.1 Hz), 3.89 (bs, 1H), 4.55 (bs, 2H), 5.19-5.38 (m, 3H), 5.87 (m, 1H).

(2S,4S)-2-[2-Hydroxyimino-3-(morpholin-4-carbonyl)amino]ethyl-4-mercaptan-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (18i)

수율 50.8%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.87 (bs, 1H), 2.25 (bs, 1H), 2.59 (m, 1H), 2.69-2.88 (bs, 3H), 3.47-3.58 (bs, 4H), 3.72-3.86 (bs, 4H), 3.99 (bs, 1H), 4.55 (bs, 2H), 5.05 (bs, 1H), 5.29 (m, 3H), 5.99 (m, 1H).

(2S,4S)-2-(3,3-Dimethylsulfamoylamino-2-hydroxyimino)ethyl-4-mercaptan-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (18j)

수율 39.4%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.89 (bs, 1H), 2.29 (bs, 1H), 2.56 (bs, 1H), 2.69-2.98 (bs, 3H), 3.01 (s, 6H), 3.98 (bs, 1H), 4.54 (bs, 2H), 5.28 (m, 3H), 5.96 (m, 1H).

(2S,4S)-2-(3-Allyloxycarbonylamino-sulfamoyl-2-hydroxyimino)ethyl-4-mercaptan-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (18k)

수율 35.4%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.92 (bs, 1H), 2.29 (bs, 1H), 2.56 (bs, 1H), 2.69-2.98 (bs, 3H), 3.98 (bs, 1H), 4.54 (bs, 2H), 5.28 (m, 3H), 5.90 (m, 1H).

Allyl (1R,5S,6S)-6-[(1R)-hydroxyethyl]-3-[5-(3-allyloxycarbonylamino-2-hydroxyimino)ethyl-1-yl]-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylate (19a)

알릴 (1R,5S,6S)-3-(다이페닐포스포릴록시)-6-[(R)-1-하이드록시에틸]-1-메틸카바펜-2-엠-3-카르복실레이트 **11** (0.50 g, 1.0 mmol)를 아세트나이트릴 (10 mL)로 용해시켜 0 °C로 냉각시킨다. 다이이소프로필에틸아민 (0.13 g, 1.0 mmol)를 적가하고, 아세트나이트릴 (5 mL)로 화합물 **18a** (0.35 g, 1.0 mmol)를 용해하여 적가한 후, 3시간동안 교반하여주고, 반응종결시 용매를 감압증류로 제거하고 에틸 아세테이트 (40 mL)로 용해하여 물 (30 mL)로 씻어준다. 유기층을 얻어 무수 마그네슘 설페이트로 건조, 여과하고 용매를 감압농축한 후, 크로마토그래피로 정제된 **19a** (0.38 g, 68.6%)의 노란색 고체를 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.25 (d, 3H, J=7.2 Hz), 1.35 (d, 3H, J=6.3 Hz), 1.98 (bs, 1H), 2.46 (m, 2H), 2.95 (dd, 1H, J=3.3 and 3.3 Hz), 3.31 (dd, 1H, J=2.5 and 2.6 Hz), 3.40 (m, 2H), 3.61 (bs, 1H), 4.11-4.19

(m, 3H), 4.55 (d, 2H, J=5.4 Hz), 4.72-4.79 (m, 4H), 5.26-5.55 (m, 7H), 5.85 (m, 3H). IR (KBr): 3410 (OH), 3230 (NH), 1720, 1705, 1660 (C=O) cm^{-1} .

화합물 **19b-k**는 **19a**의 합성방법과 같은 방법으로 처리하여 합성되었다.

(1R,5S,6S)-6-[(1R)-Hydroxyethyl]-3-[5-(3-amino-2-hydroxyimino-1-yl)-pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (20a)

화합물 **19a** (0.24 g, 0.05 mmol)과 Pd/C (10%) (0.1 g)를 테트라하이드로퓨란 용매와 포스페이트 완충용액 (pH=7) (1:1, 20 mL)의 혼합물에 용해시키고, 50 psi에서 1시간 동안 수소화반응을 시킨다. 반응종결 후, 이를 여과하고 유기 용매를 감압증류하며, 에틸 에테르 (2x20 mL)로 물층을 추출한다. 물층을 합하여 Diaion HP-20 column으로 정제하고, UV를 이용하여 298 nm인 부분을 모아서 동결건조시켜 흰색의 최종 화합물 **20a** (0.03 g, 17.9%)을 얻었다. UV λ_{max} : 298 nm. ^1H NMR (D_2O) δ 1.11 (d, 3H, J=6.9 Hz), 1.19 (d, 3H, J=5.9 Hz), 1.79 (bs, 2H), 2.65 (m, 1H), 2.86 (m, 2H), 3.21-3.43 (bs, 2H), 3.53 (bs, 1H), 3.70 (bs, 1H), 4.10 (m, 2H), 4.51 (bs, 1H). -IR (KBr): 3378, 2970, 1745, 1666, 1592, 1392 cm^{-1} .

(1R,5S,6S)-6-[(1R)-Hydroxyethyl]-3-[5-(3-acetylamino-2-hydroxyimino-1-yl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (20b)

수율 29.6%, UV λ_{max} : 298 nm. ^1H NMR (D_2O) δ 1.10 (d, 3H, J=7.1 Hz), 1.18 (d, 3H, J=6.3 Hz), 1.67 (m, 1H), 1.90 (s, 3H), 2.74 (m, 1H), 2.86-2.96 (m, 2H), 3.21-3.44 (bs, 3H), 3.58 (dd, 1H, J=5.4 and 5.8 Hz), 3.87 (bs, 2H), 4.11 (bs, 2H), 4.43 (m, 1H). IR (KBr): 3410, 1686, 1594, 1392 cm^{-1} .

(1R,5S,6S)-6-[(1R)-Hydroxyethyl]-3-[5-(3-cyclopropanecarbonylamino-2-hydroxyimino-1-yl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (20c)

수율 24.2%, UV λ_{max} : 298 nm. ^1H NMR (D_2O) δ 0.79 (bs, 2H), 0.98 (bs, 2H), 1.18 (d, 3H, J=7.1 Hz), 1.31 (d, 3H, J=6.5 Hz), 1.67 (m, 1H), 1.90-1.99 (bs, 2H), 2.63-2.74 (bs, 3H), 2.96 (m, 1H), 3.21-3.44 (bs, 2H), 3.59 (dd, 1H, J=5.4 and 5.8 Hz), 3.87 (bs, 1H), 4.11 (bs, 2H), 4.42 (m, 1H). -IR (KBr): 3390 (NH), 1745, 1680, 1650, 1410, 1166 cm^{-1} .

(1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-Hydroxyethyl]-3-[5-(3-methoxycarbonylamino-2-hydroxyimino-1-yl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (20d)

수율 29.4%, UV λ_{max} : 298 nm. $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 1.14 (d, 3H, $J=7.2$ Hz), 1.25 (d, 3H, $J=6.6$ Hz), 1.77 (m, 1H), 2.44-2.57 (m, 2H), 2.96 (m, 1H), 3.21-3.44 (bs, 2H), 3.54 (bs, 1H), 3.83 (bs, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.98 (bs, 1H), 4.14 (bs, 2H), 4.43 (m, 1H). -IR (KBr): 3400, 1755, 1690, 11639, 1415 cm^{-1} .

(1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-Hydroxyethyl]-3-[5-(3-aminocarbonylamino-2-hydroxyimino-1-yl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (20e)

수율 20.4%, UV λ_{max} : 298 nm. $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 1.12 (d, 3H, $J=7.2$ Hz), 1.25 (d, 3H, $J=6.6$ Hz), 1.79 (m, 1H), 2.45-2.59 (m, 2H), 2.96 (m, 1H), 3.28-3.44 (bs, 2H), 3.54 (bs, 1H), 3.88 (bs, 1H), 3.99 (bs, 1H), 4.14 (bs, 2H), 4.45 (m, 1H). -IR (KBr): 3388 1757, 1689, 1591, 1409 cm^{-1} .

(1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-Hydroxyethyl]-3-[5-(3-methylaminocarbonylamino-2-hydroxyimino-1-yl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (20f)

수율 21.9%, UV λ_{max} : 298 nm. $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 1.13 (d, 3H, $J=7.3$ Hz), 1.20 (d, 3H, $J=6.6$ Hz), 1.77 (m, 1H), 2.55 (s, 3H), 2.59-2.75 (m, 2H), 2.80-2.96 (m, 2H), 3.28-3.44 (bs, 2H), 3.54 (bs, 1H), 3.88 (bs, 1H), 3.93 (bs, 1H), 4.16 (bs, 1H), 4.45 (m, 1H). -IR (KBr): 3397, 1759, 1680, 1591, 1411 cm^{-1} .

(1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-Hydroxyethyl]-3-[5-(3,3-dimethylaminocarbonylamino-2-hydroxyimino-1-yl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (20g)

수율 22.0%, UV λ_{max} : 298 nm. $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 1.13 (d, 3H, $J=7.3$ Hz), 1.20 (d, 3H, $J=6.6$ Hz), 1.80 (m, 1H), 2.59-2.71 (m, 2H), 2.80-2.90 (m, 2H), 2.95 (2s, 6H), 3.22-3.42 (bs, 2H), 3.54 (bs, 1H), 3.88 (bs, 1H), 3.93 (bs, 1H), 4.16 (bs, 1H), 4.45 (m, 1H). -IR (KBr): 3397, 1759, 1680, 1591, 1411 cm^{-1} .

(1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-Hydroxyethyl]-3-[5-[3-(2-hydroxyethylamino-carbonyl)-2-hydroxy-imino-1-yl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (20h)

수율 21.6%, UV λ_{max} : 298 nm. $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 1.13 (d, 3H, $J=7.2$ Hz), 1.20

(d, 3H, J=6.3 Hz), 1.77 (m, 1H), 2.54-2.72 (m, 2H), 2.80-2.92 (m, 2H), 2.99 (t, 3H, J=5.1 Hz), 3.28-3.44 (bs, 2H), 3.54 (bs, 1H), 3.70 (t, 3H, J=5.1 Hz), 3.93 (bs, 1H), 4.16 (bs, 2H), 4.41 (m, 1H). -IR (KBr): 3397, 1756, 1685, 1595, 1401 cm^{-1} .

(1R,5S,6S)-6-[(1R)-Hydroxyethyl]-3-[5-[3-(morpholin4-carbonyl)amino-2-hydroxyimino-1-yl]pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (20i)

수율 20.8%, UV λ_{max} : 298 nm. ^1H NMR (D_2O) δ 1.12 (d, 3H, J=7.2 Hz), 1.26 (d, 3H, J=6.4Hz), 1.78 (m, 1H), 2.45-2.59 (m, 2H), 2.90 (m, 1H), 3.15 (bs, 4H), 3.28-3.44 (bs, 2H), 3.55 (m, 1H), 3.75 (bs, 4H), 3.88 (bs, 1H), 3.99 (bs, 1H), 4.16 (bs, 2H), 4.45 (m, 1H). -IR (KBr): 3372, 1752, 1688, 1586, 1400 cm^{-1} .

(1R,5S,6S)-6-[(1R)-Hydroxyethyl]-3-[5-(3,3-dimethylsulfamoylamino-2-hydroxyimino-1-yl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (20j)

수율 20.0%, UV λ_{max} : 298 nm. ^1H NMR (D_2O) δ 1.13 (d, 3H, J=7.3 Hz), 1.20 (d, 3H, J=6.6 Hz), 1.83 (m, 1H), 2.59-2.71 (m, 2H), 2.83-2.91 (m, 2H), 2.99 (2s, 6H), 3.22-3.42 (bs, 2H), 3.54 (bs, 1H), 3.88 (bs, 1H), 3.93 (bs, 1H), 4.16 (bs, 1H), 4.45 (m, 1H). -IR (KBr): 3390, 1760, 1680, 1591, 1411, 1129 cm^{-1} .

(1R,5S,6S)-6-[(1R)-Hydroxyethyl]-3-[5-[3-allyloxycarbonylamino-sulfamoylamino-2-hydroxyimino-1-yl]pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (20k)

수율 15.8%, UV λ_{max} : 298 nm. ^1H NMR (D_2O) δ 1.12 (d, 3H, J=7.2 Hz), 1.25 (d, 3H, J=6.6 Hz), 1.88 (m, 1H), 2.46-2.59 (m, 2H), 2.96 (m, 1H), 3.27-3.49 (bs, 2H), 3.59 (bs, 1H), 3.88 (bs, 1H), 3.94 (bs, 1H), 4.14 (bs, 2H), 4.45 (m, 1H). -IR (KBr): 3380 1753, 1689, 1591, 1410, 1220 cm^{-1} .

(2S,4S)-4-Triylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid (21)

메탄올 (500 ml)에 용해된 화합물 1를 0 $^{\circ}\text{C}$ 로 냉각된 4N-NaOH (38 ml, 0.15 mol)에 천천히 적가시키고, 5시간을 실온에서 교반 시킨 후, 4N-HCl (38 ml)로 중화 시켜, 이를 농축 시킨다. 잔여물을 물 (300 ml)와 에틸 아세테이트 (200 ml)로 뿜혀, 침전물을 여과한 후, 물로 씻어 준 다음 건조하여 하얀 고체 mp 202-203 $^{\circ}\text{C}$ 인 화합물 21 (39.4 g, 82.2%)를 얻었다. ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.98 (m, 1H), 2.75-2.82 (m, 1H), 3.01 (m, 1H), 3.55 (bs, 2H), 3.98 (m, 1H), 4.55 (d, 2H, J=5.9 Hz), 5.25 (m, 2H), 5.90 (m, 1H), 7.27 (m, 9H), 7.47 (m, 6H).

(2S,4S)-2-(2-Hydroxyethylcarbamoyl)-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)-pyrrolidine (22)

정제된 메틸렌 클로라이드 (300 ml)에 화합물 **21** (23.7 g, 0.05 mol)를 용해하여 0 °C로 냉각시키고 트리에틸아민 (7.4 mL, 0.055 mol)를 적가하며, 에틸클로로포르메이트 (5.25 mL, 0.055 mol)를 적가하여 30분을 교반 시킨 후, 냉각 상태에서 에탄올 아민 (3.3 mL, 0.055 mol)를 적하여 1시간을 교반한다. 혼합물을 10% 소듐바이카르보네이트 용액과 포화 소금물로 씻어주고, 유기 용매를 무수 소듐설페이트로 건조하여 감압 증류로 농축하며, 잔여물을 실리카겔 크로마토그래피로 정제하여 노란색 오일성 화합물 **22** (23.1 g, 89.5%)를 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.95 (bs, 1H), 2.20 (bs, 1H), 2.75-2.86 (bs, 1H), 2.96 (bs, 1H), 3.55 (t, 2H, J=5.6 Hz), 4.01 (m, 1H), 4.11 (t, 2H, J=5.6 Hz), 4.50-4.62 (bs, 3H), 5.28 (m, 2H), 5.87 (m, 1H), 7.27 (m, 9H), 7.48 (m, 6H).

(2S,4S)-2-(2-Mesyloxyethylcarbamoyl)-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)-pyrrolidine (23)

정제된 메틸렌 클로라이드 (200 ml)에 화합물 **22** (20.6 g, 0.04 mol)를 용해하여 0 °C로 냉각시키고 트리에틸아민 (5.9 mL, 0.044 mol)를 적가하며, 메탄설편일 클로라이드 (5.01 g, 0.044mol)를 적가하여 1시간을 교반 한다. 혼합물을 10% 소듐바이카르보네이트 용액과 포화 소금물로 씻어주고, 유기 용매를 무수 소듐설페이트로 건조하여 감압 증류로 농축하며, 잔여물을 실리카겔 크로마토그래피로 정제하여 노란색 오일성 화합물 **23** (21.8 g, 91.7%)를 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.99 (bs, 1H), 2.21 (bs, 1H), 2.75-2.82 (bs, 1H), 2.96-3.08 (bs, 4H), 3.55 (t, 2H, J=5.6 Hz), 4.01 (m, 1H), 4.25 (t, 2H, J=5.6 Hz), 4.50-4.59 (bs, 3H), 5.28 (m, 2H), 5.88 (m, 1H), 7.27 (m, 9H), 7.48 (m, 6H).

(2S,4S)-2-(2-Azidoethylcarbamoyl)-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)-pyrrolidine (24)

용매 DMSO (300 ml)에 화합물 **23** (31.5 g, 0.053 mol)과 소듐 아자이드 (13.8 g, 0.21 mol) 적가고 70 °C로 5시간을 가열 교반 한 후, 얼음 물을 붓고 에틸아세테이트 (300 mLx2)로 추출한다. 유기층을 물 (200 mLx2)과 포화 소금물로 씻어 주고 유기 용매를 무수 소듐설페이트로 건조하여 감압 증류로 농축하며, 잔여물을 실리카겔 크로마토그래피로 정제하여 노란색 오일성 화합물 **24** (24.5 g, 85.4%)를 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.13 (m, 1H), 2.82 (m, 1H), 2.95-3.08 (m, 1H), 3.39-3.48 (m, 5H), 4.05 (bs, 1H), 4.55 (m, 2H), 5.29 (m, 2H), 5.88 (m, 1H), 7.27 (m, 9H), 7.46 (m, 6H).

(2S,4S)-2-(2-Aminoethylcarbamoyl)-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)-pyrrolidine (25)

테트라 하이드로피란 (10 mL)에 화합물 **24** (1.29 g, 2.4 mmol), 트리페닐포스핀 (0.70 g, 2.6 mmol) 과 물 (0.44 mL, 24.0 mmol)를 적가하여 4시간동안 40 °C로 4시간을 가열 교반시킨 후, 냉각시키고 물 (20 mL)과 에틸 아세테이트 (30 mL)로 풀혀주며, 유기층을 포화 소금물 로 씻어주고, 유기 용매를 무수 소듐설페이트로 건조하여 감압 증류로 농축하며, 잔여물을 실리카겔 크로마토그래피로 정제하여 노란색 오일성 화합물 **25** (1.07 g, 86.4%)를 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.88 (m, 1H), 2.19 (m, 1H), 2.82-2.94 (bs, 2H), 2.95-3.08 (bs, 1H), 3.30-3.48 (bs, 4H), 4.02 (bs, 1H), 4.55 (bs, 2H), 5.22 (m, 2H), 5.84 (m, 1H), 7.27 (m, 9H), 7.46 (m, 6H).

(2S,4S)-2-(2-Allyloxycarbonylaminoethylcarbamoyl)-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (26a)

정제된 메틸렌 클로라이드 (20 ml)에 화합물 **25** (1.3 g, 2.5 mmol) 를 용해하여 0 °C로 냉각시키고 트리에틸아민 (0.37 mL, 2.75 mmol)를 적가하며, 알릴 클로로포르메이트 (0.34 g, 2.75 mmol)를 적가하여 1시간을 교반한다. 혼합물을 물 (100 mL), 메틸렌 클로라이드 (100 mL)로 풀히고 , 유기층을 포화 소금물로 씻어주고, 유기 용매를 무수 소듐설페이트 로 건조하여 감압 증류로 농축하며, 잔여물을 실리카겔 크로마토그래피로 정제하여 노란색 오일성 화합물 **26a** (1.30 g, 87.1%)를 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.85 (bs, 1H), 2.22 (m, 1H), 2.63-2.80 (bs, 1H), 3.28-3.55 (bs, 5H), 3.59 (bs, 1H), 4.04 (m, 1H), 4.50-4.62 (bs, 4H), 5.20-5.44 (m, 4H), 5.80-5.98 (m, 2H), 6.24 (bs, 1H), 7.23 (m, 9H), 7.47 (m, 6H).

26b와 **26c**는 적당한 설펜닐 클로라이드를 사용하여 **26a** 의 합성과정과 같은 방법으로 제조하였다.

(2S,4S)-2-(2-Methylsulfonylaminoethylcarbamoyl)-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (26b)

수율 82.5%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.91 (bs, 1H), 2.13 (m, 1H), 2.83-3.12 (bs, 6H), 3.25-3.48 (bs, 4H), 3.93 (m, 1H), 4.55 (bs, 2H), 5.25 (m, 2H), 5.88 (m, 1H), 6.44 (bs, 1H), 7.23 (m, 9H), 7.47 (m, 6H).

(2S,4S)-2-(2-N,N-Dimethylaminosulfonylaminoethylcarbamoyl)-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (26c)

수율 81.8%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.94 (bs, 1H), 2.22 (m, 1H), 2.78 (s, 6H), 2.90-3.22 (bs, 2H), 3.20-3.32 (bs, 3H), 3.36-3.51 (bs, 2H), 3.93 (m, 1H), 4.55 (bs,

2H), 5.25 (m, 2H), 5.88 (m, 1H), 6.74 (bs, 1H), 7.23 (m, 9H), 7.47 (m, 6H).

(2S,4S)-2-(2-(N,N-Dimethylaminocarbonylaminoethylcarbamoyl)-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (26d)

정제된 메틸렌 클로라이드 (30 ml)에 화합물 **25** (1.03 g, 2.0 mmol)를 용해하여 0 °C로 냉각시키고 트리에틸아민 (0.30 mL, 2.2 mmol)를 적가하며, 파라-나이트로페닐 클로로포르메이트 (0.44 g, 2.2 mmol)를 적가하여 1시간을 교반한다. 혼합물을 물 (30 mL), 메틸렌 클로라이드 (50 mL)로 묽히고, 유기층을 포화 소금물로 씻어주고, 유기 용매를 무수 소듐설페이트로 건조하여 감압 증류로 농축하며, 정제과정 없이 잔여물을 에탄올 (20 mL)에 용해하여 *N, N*-다이에틸 아민 (2 mL)를 적가하여 1시간을 실온에서 교반하며, 6*N*-염산 용액으로 중성화 시킨다. 에틸 아세테이트 (100 mL)과 포화 소금물로 씻어주고 유기 용매를 무수 소듐설페이트로 건조하여 감압 증류로 농축하며 잔여물을 실리카겔 크로마토그래피로 정제하여 노란색 오일 성 화합물 **26d** (0.99 g, 81.6%)를 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.92 (bs, 1H), 2.19 (m, 1H), 2.83-2.89 (bs, 1H), 2.96 (2s, 6H), 3.04 (bs, 1H), 3.29-3.56 (bs, 5H), 4.01 (m, 1H), 4.55 (bs, 2H), 5.26 (bs, 2H), 5.85 (m, 1H), 6.86 (bs, 1H), 7.24 (m, 9H), 7.45 (m, 6H).

26e-g는 적당한 아민을 사용하여 **26d**의 합성과정과 같은 방법으로 제조하였다.

(2S,4S)-2-[2-(1-Morpholinocarbonylamino)ethylcarbamoyl]-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (26e)

수율 76.2%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.90 (bs, 1H), 2.22 (m, 1H), 2.73-2.80 (m, 1H), 2.93-3.03 (bs, 2H), 3.21-3.52 (bs, 8H), 3.65 (bs, 4H), 3.96 (m, 1H), 4.49 (bs, 2H), 5.26 (m, 2H), 5.88 (m, 1H), 6.84 (bs, 1H), 7.27 (m, 9H), 7.47 (m, 6H).

(2S,4S)-2-[2-(1-Thiomorpholinocarbonylamino)ethylcarbamoyl]-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (26f)

수율 75.1%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.92 (bs, 1H), 2.20 (m, 1H), 2.52 (bs, 4H), 2.73-2.82 (m, 1H), 2.95-3.05 (bs, 2H), 3.29-3.50 (bs, 4H), 3.62 (bs, 4H), 3.95 (m, 1H), 4.49 (bs, 2H), 5.26 (m, 2H), 5.67 (bs, 1H), 5.88 (m, 1H), 6.80 (bs, 1H), 7.27 (m, 9H), 7.47 (m, 6H).

(2S,4S)-2-[2-(1-Piperazinocarbonylamino)ethylcarbamoyl]-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (26g)

수율 74.9%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.92 (bs, 1H), 2.23 (m, 1H), 2.73-2.82 (bs,

1H), 2.93-3.05 (bs, 2H), 3.21-3.65 (bs, 12H), 3.96 (m, 1H), 4.49 (bs, 2H), 5.26 (m, 2H), 5.70 (bs, 1H), 5.84 (m, 1H), 6.77 (bs, 1H), 7.27 (m, 9H), 7.47 (m, 6H).

(2S,4S)-2-[2-(3-Methylureido)ethylcarbamoyl]-4-tritylthio-1-(allyloxy-carbonyl)pyrrolidine (26h)

정제된 메틸렌 클로라이드 (20 ml)에 화합물 **25** (0.80 g, 1.60 mmol) 를 용해하여 0 °C로 냉각시키고 트리에틸아민 (0.43 mL, 3.20 mmol)과 아이소시아나네이트 (0.23 mL, 3.20 mmol)를 적가하여 5시간을 교반 한다. 혼합물을 물 (20 mL), 메틸렌 클로라이드 (30 mL)로 뿜히고, 유기층을 물과 포화 소금물로 씻어주고, 유기 용매를 무수 소듐설페이트로 건조하여 감압 증류로 농축하며, 잔여물을 실리카겔 크로마토그래피로 정제하여 노란색 오일성 화합물 **26h** (0.81 g, 88.1%)를 얻었다. ¹H-NMR (CDCl₃) δ 1.92 (bs, 1H), 2.15 (m, 1H), 2.71-3.06 (5H), 3.16-3.30 (bs, 3H), 3.74 (bs, 2H), 3.97 (m, 1H), 4.42 (m, 1H), 5.26 (m, 2H), 5.98 (m, 1H), 6.79 (bs, 1H), 7.23 (m, 9H), 7.48 (m, 6H).

(2S,4S)-2-[(2-Allyloxy-carbonylformidoyl)aminoethylcarbamoyl]-4-tritylthio-1-(allyloxy-carbonyl)pyrrolidine (26i)

에탄올 용매에 화합물 **25** (1.03 g, 2.0 mmol)를 용해하여 에틸 포름이미데이트 하이드로 클로라이드 (0.24 g, 2.2 mmol)를 적가한 후, 3시간 동안 가열환류 시킨다. 용매를 감압증류로 제거하여 불순한 잔여물을 더 이상의 정제없이 메틸렌 클로라이드 (20 mL)과 트리에틸아민 (0.30 mL, 2.2 mmol) 적가하여 냉각 시킨고, 알릴 클로로포르메이트 (0.27 g, 2.2 mmol) 적가하여 1시간을 교반 시킨다. 혼합물에 메틸렌 클로라이드 (100 mL)로 뿜혀주고 10% 소듐 바이카르보네이트와 포화 소금물로 씻어 주고, 유기층을 무수 소듐설페이트로 건조하여 감압 증류로 농축하며, 잔여물을 실리카겔 크로마토그래피로 정제하여 노란색 오일성 화합물 **26i** (1.00 g, 79.8%)를 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.82 (bs, 1H), 2.19 (m, 1H), 2.80-2.92 (bs, 1H), 3.02-3.17 (bs, 1H), 3.33-3.56 (bs, 3H), 3.78 (bs, 2H), 3.96 (m, 1H), 4.55 (bs, 2H), 4.72 (d, 2H, J=5.9 Hz), 5.20-5.44 (m, 4H), 5.85-5.98 (m, 2H), 7.23 (m, 9H), 7.47 (m, 6H), 8.92 (s, 1H).

26j는 에틸 아세트 이미데이트 하이드로클로라이드를 사용하여 **26i**의 합성 과정과 같은 방법으로 제조되었다.

(2S,4S)-2-[(2-Allyloxyacetamidoaminoethylcarbamoyl)aminoethylcarbamoyl]-4-tritylthio-1-(allyloxy-carbonyl)pyrrolidine (26j)

수율 70.2%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.85 (bs, 1H), 2.19 (m, 1H), 2.24 (s, 3H),

2.80-2.92 (bs, 1H), 3.02-3.17 (bs, 2H), 3.30-3.56 (bs, 4H), 3.96 (m, 1H), 4.45 (bs, 2H), 4.70 (d, 2H, J=5.9 Hz), 5.20-5.44 (m, 4H), 5.85-6.04 (m, 2H), 6.66 (bs, 1H), 7.23 (m, 9H), 7.47 (m, 6H).

26k는 1H-피라졸-1-카르복스아미딘 하이드로클로라이드를 사용하여 **26i**의 합성 과정과 같은 방법으로 제조되었다.

(2S,4S)-2-[(2-Allyloxyguanidinoethylcarbamoyl)ethylcarbamoyl]-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (26k)

수율 75.1%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.89 (bs, 1H), 2.19 (m, 1H), 2.80-2.92 (bs, 1H), 2.95-3.07 (bs, 2H), 3.30-3.59 (bs, 4H), 3.96 (m, 1H), 4.25-4.58 (bs, 4H), 4.72 (d, 2H, J=5.9 Hz), 5.20-5.57 (m, 6H), 5.75-5.98 (m, 3H), 7.23 (m, 9H), 7.47 (m, 6H), 8.92 (bs, 1H), 8.96 (bs, 1H).

(2S,4S)-2-[2-(Thiomorpholin-4-yl)ethylcarbamoyl]-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (28l)

화합물 **23** (1.2 g, 2.0 mmol)과 티오모포린 (0.41 g, 4.0 mmol)의 혼합물을 실온에서 20 시간을 교반하고 1N-염산 용액 (30 mL), 에틸 아세테이트 (50 mL)로 풀혀주고, 유기층을 무수 소듐설페이트로 건조하여 감압 증류로 농축하며, 잔여물을 실리카겔 크로마토그래피로 정제하여 노란색 오일성 화합물 **28l** (1.03 g, 85.9%)를 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.88 (m, 1H), 2.19 (m, 1H), 2.52 (bs, 1H), 2.55-2.98 (bs, 7H), 3.08 (bs, 2H), 3.25-3.44 (bs, 4H), 3.95 (m, 1H), 4.15 (m, 1H), 4.45 (m, 2H), 5.29 (m, 2H), 5.88 (m, 1H), 6.74 (bs, 1H), 7.27 (m, 9H), 7.47 (m, 6H).

28m는 피페라진을 사용하여 **28l**의 합성 과정과 같은 방법으로 제조되었다.

(2S,4S)-2-[2-(Piperazine-1-yl)ethylcarbamoyl]-4-tritylthio-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidine (28m)

수율 72.4%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.87 (bs, 1H), 2.18 (m, 1H), 2.37-2.55 (bs, 6H), 2.77-2.89 (bs, 1H), 2.94-3.01 (bs, 2H), 3.22 (bs, 2H), 3.55 (bs, 4H), 4.01 (bs, 1H), 4.43 (bs, 2H), 5.04 5.26 (m, 2H), 5.85 (m, 1H), 6.68 (bs, 1H), 7.24 (m, 9H), 7.45 (m, 6H).

Allyl (1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-hydroxyethyl]-2-[5-(2-allyloxycarbonylamino-ethylcarbamoyl)]-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methyl-carbapen-2-em-3-carboxylate (29a)

화합물 **26a** (0.58 g, 1.0 mmol)를 메틸렌 클로라이드 (2 mL)로 용해하여 0 °C로 냉각시키고, 트리에틸 실란 (0.13 g, 1.1 mmol)과 트리플루오로아세트익 액시드 (2mL)를 적가하여 30분을 교반 시키며, 이를 감압으로 용매를 제거하고 에틸 아세테이트를 붓고 10% 소듐바이카르보네이트로 중성화한 후, 유기층을 추출하고 무수 소듐 설페이트로 건조, 여과하여 용매를 감압 농축시키며 더 이상의 정제과정 없이 알릴 (1*R*,5*S*,6*S*)-3-(다이페닐포스포릴록시)-6-[(*R*)-1-하이드록시에틸]-1-메틸카바펜-2-엠-3-카르복실레이트 **11** (0.50 g, 1.0 mmol)을 아세트나이트릴 (10 mL)로 용해시켜 0 °C로 냉각시킨다. 다이이소프로필에틸아민 (0.13 g, 1.0 mmol)을 적가하고, 아세트나이트릴 5 mL로 머캇토 화합물 **27a** (0.36 g, 1.0 mmol)을 용해하여 적가한 후, 3시간 동안 교반하여 주고, 반응 종결시 용매를 감압증류로 제거하고 에틸 아세테이트 40 mL로 용해하여 물 30 mL로 씻어준다. 유기층을 얻어 무수 마그네슘 설페이트로 건조, 여과하고 용매를 감압농축한 후, 크로마토그래피로 분리회수하여 노란색 고체의 정제된 화합물 **28a** (0.45 g, 71.1%)을 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.25 (d, 3H, J=7.1 Hz), 1.36 (d, 3H, J=6.4 Hz), 2.21 (bs, 1H), 2.46 (bs, 1H), 2.95 (dd, 1H, J=3.3 and 3.3 Hz), 3.06-3.55 (bs, 7H), 3.90 (bs, 2H), 4.15 (bs, 1H), 4.19 (bs, 1H), 4.45-4.69 (bs, 6H), 5.26-5.55 (m, 6H), 5.75-6.01 (bs, 3H). IR (KBr): 3410 (OH), 3230 (NH), 1720, 1705,1660 (C=O) cm⁻¹.

29b-m는 위에 기술한 **29a**의 합성과정과 같은 방법으로 제조되었다.

Allyl (1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-hydroxyethyl]-2-[5-(2-methylsulfonylamino-ethylcarbamoyl)]-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methyl-carbapen-2-em-3-carboxylate (29b)

수율 63.9%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.26 (d, 3H, J=7.1 Hz), 1.37 (d, 3H, J=6.2 Hz), 1.91 (m, 1H), 2.39 (bs,1H), 2.86 (m, 1H), 2.99 (s, 3H), 3.21-3.42 (bs, 4H), 3.54 (m, 2H), 3.82 (bs, 1H), 3.99 (bs, 1H), 4.18 (m, 2H), 4.42 (m, 1H) 4.49-4.68 (bs, 4H), 5.25-5.53 (m, 4H), 5.75-6.01 (bs, 2H).

Allyl (1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-hydroxyethyl]-2-[5-(2-*N,N*-dimethylamino-sulfonylamino-ethylcarbamoyl)]-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylate (29c)

수율 64.3%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.25 (d, 3H, J=7.1 Hz), 1.35 (d, 3H, J=6.2 Hz), 2.06 (m, 1H), 2.39 (bs, 1H), 2.80 (m, 1H), 2.89 (s, 6H), 3.21-3.33 (bs, 2H),

3.38-3.54 (bs, 3H), 3.58 (m, 1H), 3.82 (bs, 1H), 3.99 (bs, 1H), 4.18 (m, 2H), 4.40 (m, 1H), 4.49-4.68 (bs, 4H), 5.25-5.53 (m, 4H), 5.70-5.99 (bs, 2H).

Allyl (1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-hydroxyethyl]-2-[5-(2-*N,N*-dimethylamino-carbonylaminoethylcarbamoyl)]-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylate (29d)

수율 72.5%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.28 (d, 3H, J=7.0 Hz), 1.37 (d, 3H, J=6.1 Hz), 1.98 (m, 1H), 2.30 (bs,1H), 2.86 (m, 1H), 2.87 (s, 6H), 3.21-3.36 (bs, 2H), 3.40-3.55 (m, 3H), 3.60 (m,1H), 3.82 (bs, 1H), 3.99 (bs, 1H), 4.18 (m, 2H), 4.42 (m, 1H), 4.49-4.68 (bs, 4H), 5.25-5.53 (m, 4H), 5.70-5.96 (bs, 2H).

Allyl (1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-hydroxyethyl]-2-[5-{2-(1-morpholinocarbonyl-amino)ethylcarbamoyl}]1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methyl-carbapen-2-em-3-carboxylate (29e)

수율 69.9%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.26 (d, 3H, J=7.0 Hz), 1.38 (d, 3H, J=6.0 Hz), 1.91 (m, 1H), 2.39 (bs,1H), 3.21-3.52(bs, 9H), 3.54-3.62 (bs, 6H), 3.82 (bs, 1H), 4.03 (bs, 1H), 4.18 (m, 2H), 4.42 (m, 1H), 4.49-4.68 (bs, 4H), 5.25-5.53 (m, 4H), 5.75-5.97 (bs, 2H).

Allyl (1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-hydroxyethyl]-2-[5-{2-(1-thiomorpholino-carbonylamino)ethylcarbamoyl}]1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methyl-carbapen-2-em-3-carboxylate (29f)

수율 65.9%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.26 (d, 3H, J=7.0 Hz), 1.38 (d, 3H, J=6.0 Hz), 2.46 (m, 1H), 2.51 (bs, 4H), 2.79-2.85 (m, 1H), 3.03-3.16 (bs, 4H), 3.28-3.44 (bs, 3H), 3.54-3.65 (bs, 4H), 3.69 (m, 1H), 3.85 (bs, 1H), 3.99 (bs, 1H), 4.16 (bs, 1H), 4.45 (m, 1H), 4.45-4.67 (bs, 4H), 5.29-5.53 (m, 4H), 5.75-6.01 (bs, 2H).

Allyl (1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-hydroxyethyl]-2-[5-{2-(1-piperazinocarbonyl-amino)ethylcarbamoyl}]1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methyl-carbapen-2-em-3-carboxylate (29g)

수율 68.4%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.26 (d, 3H, J=6.7 Hz), 1.35 (d, 3H, J=6.2 Hz), 1.97 (m, 1H), 2.34 (m, 1H), 2.70 (m, 1H), 3.10 (bs, 1H), 3.15-3.26 (bs, 5H), 3.30-3.49 (bs, 6H), 3.59 (bs, 2H), 3.94 (m, 1H), 4.12 (bs, 2H), 4.19 (m, 1H), 4.29 (m, 1H), 4.45-4.69 (bs, 6H), 5.26-5.55 (m, 6H), 5.75-6.01 (bs, 3H).

Allyl (1R,5S,6S)-6-[(1R)-hydroxyethyl]-2-[5-(2-methylaminothiocarbonyl-aminoethyl-carbamoyl)]-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylate (29h)

수율 65.5%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.26 (d, 3H, J=6.9 Hz), 1.35 (d, 3H, J=6.3 Hz), 1.99 (m, 1H), 2.45 (m, 1H), 2.89 (bs, 3H), 3.11-3.39 (bs, 4H), 3.44-3.69 (bs, 3H), 3.80 (m, 1H), 3.91 (m, 1H), 4.06 (m, 1H), 4.16 (m, 1H), 4.33 (m, 1H), 4.47-4.69 (bs, 4H), 5.26-5.55 (m, 4H), 5.71-5.98 (bs, 2H).

Allyl (1R,5S,6S)-6-[(1R)-hydroxyethyl]-2-[5-(2-formidoaminoethylcarbamoyl)]-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylate (29i)

수율 66.4%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.26 (d, 3H, J=6.9 Hz), 1.35 (d, 3H, J=6.1 Hz), 1.90 (m, 1H), 2.50-2.69 (m, 2H), 3.05-3.33 (bs, 5H), 3.42 (m, 1H), 3.55-3.66 (bs, 2H), 3.70 (bs, 1H), 4.01 (m, 1H), 4.31 (m, 1H), 4.45-4.69 (bs, 4H), 5.26-5.55 (m, 4H), 5.75-5.99 (bs, 2H), 7.88 (d, 1H J=6.2 Hz).

Allyl (1R,5S,6S)-6-[(1R)-hydroxyethyl]-2-[5-(2-acetamidoaminoethyl-carbamoyl)]-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylate (29j)

수율 62.4%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.27 (d, 3H, J=6.9 Hz), 1.36 (d, 3H, J=6.1 Hz), 1.99 (m, 1H), 2.15 (s, 3H), 2.59-2.67 (m, 1H), 3.03 (m, 1H), 3.08-3.39 (bs, 5H), 3.53 (m, 1H), 3.69 (bs, 1H), 3.80 (m, 1H), 4.01-4.15 (bs, 2H), 4.35 (m, 1H), 4.45-4.69 (bs, 6H), 5.16-5.55 (m, 6H), 5.70-5.99 (bs, 3H).

Allyl (1R,5S,6S)-6-[(1R)-hydroxyethyl]-2-[5-(2-guanidinoethylcarbamoyl)]-1-(allyloxycarbonyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylate (29k)

수율 66.0%. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.26 (d, 3H, J=6.9 Hz), 1.35 (d, 3H, J=6.1 Hz), 1.98 (m, 1H), 2.59-2.69 (m, 1H), 3.03 (m, 1H), 3.08-3.62 (bs, 7H), 4.01-4.31 (bs, 3H), 4.35 (m, 1H), 4.45-4.89 (bs, 8H), 5.08-5.55 (m, 8H), 5.75-6.03 (bs, 4H).

(1R,5S,6S)-6-[(1R)-Hydroxyethyl]-2-[5-(2-aminoethylcarbamoyl)]-pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (30a)

화합물 **29a** (0.31 g, 0.50 mmol)과 Pd(OH)₂ (10%)을 테트라하이드로퓨란과 포스페이이트 완충용액(pH=7)(1:1, 10 mL)의 혼합물에 용해시키고, 50 psi에서 1시간 동안 수소화반응을 시킨다. 반응종결 후, 이를 여과하고 유기 용매를 감압증류하며,

에틸 에테르 2x20 mL로 물층을 추출한다. 물층을 합하여 테트라하이드로퓨란 2%의 수용액의 용출용매를 사용한 다이아이온(Diaion) HP-20 컬럼으로 정제하고, UV를 이용하여 298 nm인 부분을 모아서 동결건조시켜 흰색의 최종 화합물 **30a**을 얻었다. 수율 21.8%. -mp 150-165 °C (dec.). -UV λ_{max} : 298 nm. $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 1.11 (d, 3H, J=6.8 Hz), 1.17 (d, 3H, J=5.9 Hz), 1.78 (bs, 1H), 2.63 (m, 1H), 2.94 (m, 1H), 3.01-3.48 (bs, 5H), 3.53-3.65 (bs, 2H), 3.70 (bs, 2H), 4.01 (m, 1H), 4.51 (bs, 1H). -IR (KBr): 3480, 1745, 1666 cm^{-1} . -HRMS(FAB) Calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$ 398.1625, Found (M+H)⁺ 398.1999.

30b-m는 위에 기술한 **30a**의 합성과정과 같은 방법으로 제조되었다.

(1R,5S,6S)-6-[(1R)-Hydroxyethyl]-2-[5-(2-methylsulfonylaminoethyl)-carbamoyl]pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (30b)

수율 24.4%. -mp 163-175 °C (dec.). -UV λ_{max} : 298 nm. $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 1.10 (d, 3H, J=7.1 Hz), 1.16 (d, 3H, J=6.2 Hz), 1.90 (m, 1H), 2.13 (bs, 1H), 2.86 (m, 1H), 2.97 (s, 3H), 3.03 (bs, 2H), 3.18-3.40 (bs, 4H), 3.54 (dd, 1H, J=5.2 and 5.6 Hz), 3.89 (bs, 1H), 4.04 (bs, 2H), 4.42 (m, 1H). -IR (KBr): 3390 (NH), 1710, 1680, 1410, 1166 cm^{-1} . -HRMS(FAB) Calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_7\text{S}_2$ 476.1401, Found (M+H)⁺ 476.1392.

(1R,5S,6S)-6-[(1R)-Hydroxyethyl]-2-[5-(2-N,N-dimethylaminosulfonyl-aminoethylcarbamoyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (30c)

수율 29.4%. -mp 145-168 °C (dec.). -UV λ_{max} : 298 nm. $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 1.10 (d, 3H, J=7.0 Hz), 1.16 (d, 3H, J=6.3 Hz), 1.93 (m, 1H), 2.13 (bs, 1H), 2.65 (s, 6H), 2.86 (m, 1H), 3.02 (bs, 2H), 3.21-3.44 (bs, 4H), 3.59 (dd, 1H, J=5.4 and 5.8 Hz), 3.87 (bs, 1H), 4.11 (bs, 2H), 4.42 (m, 1H). -IR (KBr): 3390 (NH), 1715, 1690, 1400, 1166 cm^{-1} . -HRMS(FAB) Calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_7\text{S}_2$ 505.1666, Found (M+H)⁺ 505.1700.

(1R,5S,6S)-6-[(1R)-Hydroxyethyl]-2-[5-(2-N,N-dimethylaminocarbonyl-aminoethylcarbamoyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (30d)

수율 25.2%. -mp 155-171 °C (dec.). -UV λ_{max} : 298 nm. $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 1.14 (d, 3H, J=7.0 Hz), 1.25 (d, 3H, J=6.2 Hz), 1.73 (m, 1H), 2.57 (bs, 1H), 2.68

(s, 6H), 2.96–3.18 (bs, 4H), 3.21–3.44 (bs, 3H), 3.60 (bs, 1H), 3.83 (bs, 1H), 4.14 (bs, 2H), 4.49 (m, 1H). -IR (KBr): 3400, 1755, 1700, 1670, 1415 cm^{-1} . -HRMS(FAB) Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$ 469.1995, Found (M+H)⁺ 469.1968.

(1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-Hydroxyethyl]-2-[5-{2-(1-morpholinocarbonylamino)-ethylcarbamoyl}pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (30e)

수율 20.2%. -UV λ_{max} : 298 nm. ¹H NMR (D_2O) δ 1.06 (d, 3H, J=6.9 Hz), 1.13 (d, 3H, J=6.2 Hz), 1.93 (m, 1H), 2.46 (m, 1H), 3.03–3.30 (bs, 8H), 3.34–3.50 (bs, 2H), 3.54–3.69 (bs, 5H), 3.85 (bs, 2H), 3.99 (bs, 1H), 4.16 (bs, 1H), 4.45 (m, 1H). -IR (KBr): 3390, 1720, 1700, 1680, 1591, 1400 cm^{-1} .

(1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-Hydroxyethyl]-2-[5-{2-(1-thiomorpholinocarbonylamino)ethylcarbamoyl}pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (30f)

수율 21.5%. -UV λ_{max} : 298 nm. ¹H NMR (D_2O) δ 1.06 (d, 3H, J=6.6 Hz), 1.13 (d, 3H, J=6.1 Hz), 1.87 (m, 1H), 2.46 (m, 1H), 2.51 (bs, 4H), 2.79–2.85 (m, 1H), 3.03–3.16 (bs, 4H), 3.28–3.44 (bs, 3H), 3.54–3.65 (bs, 4H), 3.69 (m, 1H), 3.85 (bs, 1H), 3.99 (bs, 1H), 4.16 (bs, 1H), 4.45 (m, 1H). -IR (KBr): 3390, 1720, 1690, 1680, 1591, 1390 cm^{-1} .

(1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-Hydroxyethyl]-2-[5-{2-(1-piperazinocarbonylamino)-ethylcarbamoyl}pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (30g)

수율 21.9%. -UV λ_{max} : 298 nm. ¹H NMR (D_2O) δ 1.03 (d, 3H, J=6.7 Hz), 1.10 (d, 3H, J=6.2 Hz), 1.87 (m, 1H), 2.46 (m, 1H), 2.85 (m, 1H), 3.05–3.46 (bs, 10H), 3.54 (bs, 2H), 3.69 (m, 2H), 3.85 (bs, 1H), 4.02 (bs, 2H), 4.18 (m, 1H), 4.45 (m, 1H). -IR (KBr): 3390, 1740, 1715, 1680, 1411 cm^{-1} .

(1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-Hydroxyethyl]-2-[5-(2-methylaminothiocarbonylaminoethylcarbamoyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (30h)

수율 23.8%. -UV λ_{max} : 298 nm. ¹H NMR (D_2O) δ 1.07 (d, 3H, J=7.0 Hz), 1.17 (d, 3H, J=6.2 Hz), 1.87 (m, 1H), 2.45–2.59 (m, 1H), 2.88 (bs, 3H), 3.15–3.39 (bs, 4H), 3.44–3.69 (bs, 3H), 3.80 (m, 1H), 3.91 (m, 1H), 4.06–4.12 (bs, 2H), 4.45 (m, 1H). -IR (KBr): 3400, 1730, 1680, 1586, 1400 cm^{-1} .

(1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-Hydroxyethyl]-2-[5-(2-*N*-acetformidoaminoethyl-carbamoyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (30i)

수율 24.3%. -mp 148-162 °C (dec.). -UV λ_{max} : 298 nm. $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 1.03 (d, 3H, $J=6.8$ Hz), 1.11 (d, 3H, $J=6.2$ Hz), 1.56 (m, 1H), 2.50-2.59 (m, 1H), 2.95-3.10 (bs, 2H), 3.12-3.24 (bs, 2H), 3.27-3.40 (bs, 2H), 3.55-3.66 (bs, 2H), 3.70 (bs, 1H), 4.16 (m, 2H), 4.41 (m, 1H), 7.68 (d, 1H $J=6.2\text{Hz}$). -IR (KBr): 3397, 1756, 1685, 1655, 1401 cm^{-1} . -HRMS(FAB) Calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$ 425.1736, Found (M+H)⁺ 425.1800.

(1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-Hydroxyethyl]-2-[5-(2-*N*-acetylacetamidoaminoethyl-carbamoyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (30j)

수율 22.2%. -mp 196-205 °C (dec.). -UV λ_{max} : 298 nm. $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 1.10 (d, 3H, $J=7.0$ Hz), 1.18 (d, 3H, $J=6.3$ Hz), 1.60 (m, 1H), 2.05 (s, 3H), 2.59-2.67 (m, 1H), 2.99 (m, 1H), 3.08-3.39 (bs, 4H), 3.41-3.53 (m, 2H), 3.59 (bs, 1H), 3.73-3.89 (bs, 1H), 4.01-4.15 (bs, 2H), 4.45 (m, 1H). -IR (KBr): 3490, 1740, 1700, 1650, 1400 cm^{-1} . -HRMS(FAB) Calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$ 439.1889, Found (M+H)⁺ 439.1992.

(1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-Hydroxyethyl]-2-[5-(2-guanidinoethylcarbamoyl)-pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (30k)

수율 20.0%. -mp 193-205 °C (dec.). -UV λ_{max} : 298 nm. $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 1.02 (d, 3H, $J=7.3$ Hz), 1.10 (d, 3H, $J=6.4$ Hz), 1.88 (m, 1H), 2.55-2.61 (m, 1H), 3.10-3.45 (bs, 6H), 3.55 (m, 1H), 3.88 (bs, 2H), 4.03 (bs, 2H), 4.45 (m, 1H). -IR (KBr): 3980, 1710, 1640, 1580, 1405 cm^{-1} . -HRMS(FAB) Calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{O}_5\text{S}$ 440.1842, Found (M+H)⁺ 440.1799.

(1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-Hydroxyethyl]-2-[5-{2-(thiomorpholino-1-yl)ethyl-carbamoyl}pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (33l)

수율 20.1%. -UV λ_{max} : 298 nm. $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 0.98 (d, 3H, $J=7.1$ Hz), 1.06 (d, 3H, $J=6.4$ Hz), 1.78 (m, 1H), 2.65-2.79 (bs, 5H), 2.90-3.01 (bs, 2H), 3.05-3.38 (bs, 5H), 3.55-3.60 (bs, 3H), 3.65 (bs, 1H), 3.80-3.88 (bs, 2H), 4.03 (bs, 2H), 4.45 (m, 1H). -IR (KBr): 3470, 1730, 1685, 1580, 1425 cm^{-1} .

(1*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-Hydroxyethyl]-2-[5-(2-(piperazine-1-yl)ethylcarbamoyl)pyrrolidin-3-ylthio]-1-methylcarbapen-2-em-3-carboxylic acid (33m)

수율 16.9%. -mp 166-175 °C (dec.). -UV λ_{max} : 298 nm. -¹H-NMR (D₂O) δ 1.02 (d, 3H, J=7.1 Hz), 1.08 (d, 3H, J=6.4 Hz), 1.88 (m, 1H), 2.45-2.49 (m, 1H), 2.60-2.69 (bs, 4H), 3.07-3.15 (bs, 4H), 3.25-3.39 (bs, 4H), 3.66-3.78 (m, 2H), 3.89 (m, 2H), 4.03 (m, 2H), 4.26 (m, 1H), 4.45 (m, 1H). -IR (KBr): 3370, 1755, 1690, 1580, 1430 cm⁻¹. -HRMS(FAB) Calcd for C₂₁H₃₃N₅O₅S 467.2203, Found (M+H)⁺ 467.2230.

여 백

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 목표달성도

본 연구는 중점국가연구개발사업의 2단계 연구로 생리활성물질 개발사업단에 속하여 1단계에서 도출된 카바페넴계 선도물질을 중심으로 2천년대 세계 항생제 시장을 주도할 수 있는 차세대 내성균 감염질환 치료용 항생제 후보물질을 개발하기 위한 연구이며, 본 연구팀의 협동과제는 그람 양성균 및 그람 음성균에 모두 탁월한 효능을 나타내는 주사용 광범위 카바페넴 후보물질을 도출하는 것을 목적으로 하는 과제이다.

2단계 2년간의 연구수행으로 1단계에서 도출된 3종의 선도 화합물 (P-91014, P-91409, P-91022)에 대한 광범위용 후속 보완물질 합성과 병원 분리 내성균에 대한 효능검색, 약물동력학적 연구 및 100여개의 카바페넴계 신규물질을 합성하여 1차 활성검색을 실시하였다. 이들 화합물들에 대한 화학적 및 생리활성적 특징은 다음과 같다.

1. 광범위용 후속 보완물질 합성

- P91014와 유사한 구조변환으로 유기산, 아미딘, 옥심 등의 관능기를 갖는 30여종의 신규 카바페넴 합성.
- 이중 우수한 효능을 나타내는 6종의 선도물질을 도출하였으며 미세 구조변환으로 효능증대 연구 수행 중.

2. 광범위용 신규 카바페넴 합성

- 피롤리딘의 측쇄의 시아노기를 옥심으로 변환하거나 메실기를 오원환의 이환고리로 치환하여 15종의 신규 카바페넴 합성.
- 피롤리딘측쇄에 옥심기가 도입된 우레아형의 카바페넴유도체를 십여종 합성하였고 그 외에도 유사한 우레아형의 카바페넴 유도체를 십여종 합성하여 MIC 시험 실시.

3. P91014, P91409 및 P91022의 효능연구

- 호기성 그람양성 균주 중 *E. faecium*을 제외한 모든 균주에서 시험한 카바페넴

이 모두 내성율 0%의 매우 우수한 효능을 나타내었음.

- 호기성 그람양성 균주에 대한 효능의 서열은 IPM¹ > P91014 = P91409 > P91022 > MPM² > EPM³ 이었음.
 - 호기성 그람양성 균주 중 호흡기감염의 중요 균주인 *S. pneumoniae*에 대해서는 P91022가 비교 약물에 비해 가장 우수한 효능을 나타냄.
 - 호기성 그람음성 균주 중 *A. baumannii*와 *P. aeruginosa*를 제외한 모든 균주에서 시험한 카바페넴이 대부분 내성율 0%의 매우 우수한 효능을 나타내었음.
 - 호기성 그람음성 균주에 대한 효능의 서열은 MPM > P91022 > P91014 > EPM > 91409 > IPM 이었음.
 - 호기성 그람음성 균주 중 원내감염의 가장 중요 균주인 *P. aeruginosa*에 대한 내성율은 MPM 11.7%로 가장 우수하며 IPM 18.3%, P91022 20%, P91014 50%, P91409 50%, EPM 68.3%의 순이었음.
 - 혐기성 그람양성 및 그람음성 균주에서는 시험한 카바페넴이 모두 내성율 0%의 매우 우수한 효능을 나타내었음.
 - 상기의 결과를 종합하여 볼 때, 시판 카바페넴에 비하여 P91022가 중요 균주를 포함한 그람양성 및 그람음성균 모두에 대하여 가장 균형있는 효능을 나타냄.
- * IPM¹: Imipenem, MPM²: Meropenem, EPM³: Ertapenem

4. P91409 및 P91022의 약물동력학 연구

- P91409의 경우 rat에서는 MPM에 비해 반감기는 6배, 생체이용율은 5배 우수한 값을 나타내며, dog에서는 오차범위 내에서 MPM에 비하여 다소 열등한 값을 나타냄.
- P91022의 rat에서의 약물동태연구를 수행하였음.

5. P91022 및 P21027의 구조변환

- P91022의 올레핀기를 히드록시에틸기로 구조변환한 P22011을 합성하였으며 이는 탁월한 활성과 DHP-1에 대한 안정성을 나타내었음.
- P21027의 이소옥사졸을 이소옥사졸린으로 구조변환하여 ESBL G(-)와 MDR G(-) 등 그람음성 내성균에 탁월한 효능을 나타내는 선도물질 P22007, P22010 등을 도출하였음.

이와 같은 연구결과로 3건의 국내특허를 등록하였으며 2건의 국내특허를 출원하였다. 또한 9편의 논문을 외국 전문학술지에 게재하였고, 1편을 응모 중에 있다.

6. 논문게제

- 1) Synthesis and Biological Properties of New 1 β -Methylcarbapenems Containing Heteroaromatic Thioether Moiety. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, 11(17).
- 2) Synthesis and Antibacterial activity of 1 β -Methylcarbapenems Having a 2,2-Disubstituted-1,3-diazabicyclo[3.3.0]-octan-4-one Moiety and Their Related compounds. Part III. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **2002**, 335(4).
- 3) Synthesis and Antibacterial Activity of 1 β -Methyl-2-(5-substituted thiazolidinopyrrolidin-3-ylthio)carbapenems and Their Related Compounds. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **2002**, 335(5).
- 4) Synthesis and Antibacterial Activity of 1 β -Methyl-2-(5-substituted thiazolopyrrolidin-3-ylthio)carbapenem Derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, 37(9).
- 5) Synthesis and Biological Evaluation of Novel 1 β -Methylcarbapenems with Isothiazoloethenyl Side Chains. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13(3).
- 6) Synthesis and Antibacterial Activities of 4-Pyrrolidinylthio Carbapenems: Containing Heteroaromatics as a Side Chain. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **2003**, 336.
- 7) Synthesis and Antibacterial Activity of 1 β -Methyl-2-[5-(N-Substituted (2-hydroxyimino)ethylpyrrolidin-3-ylthio)]carbapenem Derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, 38.
- 8) Synthesis and Antibacterial Activity of 1 β -Methyl-2-(5-substituted oxadiazolopyrrolidin-3-ylthio)carbapenem Derivatives. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **2003**, 336.
- 9) Synthesis and Antibacterial Activity of 1 β -Methyl-2-(5-substituted imidazolinopyrrolidin-3-ylthio)carbapenem Derivatives. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **2003**, 336.
- 10) Synthesis and Antibacterial Activity of 1 β -Methyl-2-[5-(2-N-Substituted aminoethylcarbamoyl)pyrrolidin-3-ylthio]carbapenem Derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, submitted.

7. 특허출원

- 1) 피롤로(1,2-c)이미다졸이중고리를 가지는 1-베타메틸카바페넴 유도체와 그의 제조방법, 대한민국, 조정혁 외, 출원번호 01-49334, 출원일 2001.08.06.

- 2) 피롤로(1,2-c)이미다졸이중고리를 가지는 1-베타메틸카바페넴 유도체와 그의 제조방법, 대한민국, 조정혁 외, 출원번호 01-54467, 출원일 2001.09.15.
- 3) 신규 1-베타메틸카바페넴 유도체 및 그의 제조방법, 대한민국, 김동진 외. 등록번호 02-345465, 등록일 2002.07.09.
- 4) 신규 1-베타메틸카바페넴 유도체 및 그의 제조방법, 대한민국, 김동진 외. 등록번호 02-345468, 등록일 2002.07.09.
- 5) 신규 카바페넴 유도체 및 그의 제조방법, 미국, 김동진 외. 등록번호 02-6436921, 등록일 2002.08.20.

이와 같은 연구 결과를 종합하여 볼 때, 연구계획서상의 연구개발 목표를 100% 달성하였다고 사료된다.

제 2 절 관련분야에의 기여도

- 다양한 계열의 1 β -메틸카바페넴계 화합물을 합성하여 약효검색을 수행한 결과 1 β -메틸카바페넴계 화합물의 구조-활성 상관관계를 이해하는데 중요한 자료를 제공하였다.
- 산. 학. 연의 연구체계를 활성화하여 국내 항생제의 약효 및 독성평가 기술을 제고하였으며, 이와 같은 생물학적 시험결과를 종합적으로 분석하여 분자설계 및 구조변경 연구에 효율적으로 feed-back할 수 있는 체계를 구축하였다.
- 차세대 주사제 카바페넴 항생제가 지향하여야 할 방향을 제시하였으며, 특히 염의 형태의 카바페넴 화합물을 분리, 정제, 분석하는 많은 know-how를 축적하였다.
- 카바페넴 항생제를 합성하기 위한 새로운 합성방법, 특히 PNZ 또는 PNB 등의 보호기를 제거하는 새로운 방법을 개발하여 보다 다양한 카바페넴 화합물을 합성할 수 있는 방법을 제공하였다.
- 본 연구의 결과로 도출된 후보물질 및 선도물질에 대한 전임상 시험을 진행할 경우, 병원 임상군주에 대한 *in vitro* 활성시험 및 *in vivo* 치료효과 연구등, 항생제 연구에서의 국내 종합병원과의 공동연구의 활성화에 에 큰 기여를 할 것이다.
- 이와 같은 점을 종합하여 볼 때, 국내 신규카바페넴 항생제 개발에 대한 관심을 제고하였으며, 화학, 약학, 생물학, 의약 등 신약개발 관련 과학자 들의 공동연구의 보다 체계적인 활성화에 지대한 기여를 하였다고 사료된다.

여 백

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

- 본 과제의 합성연구의 핵심인 1 β -메틸카바페넴 모핵과 C2 위치에 도입할 치환기의 합성기술을 보다 발전시켜 효율적인 신규 카바페넴계 화합물의 합성에 응용할 것이다.
- 본 연구에서 도출된 선도물질 P91022의 약물동력학 시험 결과 우수한 특성을 나타내면 급성독성, CNS독성, 간독성, 신장독성 등 제반 독성시험을 실시할 것이다.
- P91022의 구조변환으로 우수한 특성을 나타낸 P22010의 다양한 유도체를 합성하여 후보물질을 도출할 것이다.

여 백

제 6 장 참고문헌

1. 산업정보기술원. '항생물질 제조기술과 개발동향', 산업기술정보원 (1987).
2. 김희중. '항생제의 길잡이' (1980).
3. Abraham, E. P.; Loder, P. B. '*Chemistry and Biolog.*', Ed. Flynn, E. H., Academic Press, New York, 1 (1966).
4. Fleming, A. *Brit. J. Exptl., Pathol* (1929).
5. Moellering, R. C. Jr.; Eliopoulos, G. M.; Sentochnik, D. E. *J. Antimicrob. Chemother.* **1989**, 24 (suppl. A), 1.
6. Shih, D. H.; Baker, F.; Cama, L.; Christensen, B. G. *Heterocycles* **1984**, 21, 29.
7. Sumita, Y.; Nouda, H.; Shinagawa, H.; Yamaga, H.; Sunagawa, M. *J. Antibiotics* **1995**, 48, 188.
8. Miyashita, K.; Massova, I.; Taibi, P.; Mabashery, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 11055.
9. Woodward, R. B. '*Recent Advances in the Chemistry of β -Lactam Antibiotics*', Ed. Elks, J., The Chemical Society, London, 167-192 (1977).
10. Johnston, D. B. R.; Schmitt, S. M.; Bouffard, F. A.; Christensen, B. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 313.
11. Horadam, V. W.; Smilack, J. D.; Montgomery, C. L.; Werringoer, J. *Antimicrob. Agent. Chemother.* **1980**, 557.
12. Sunagawa, M.; Matsumura, H.; Inoue, T.; Fukasawa, M.; Kato, M. *J. Antibiot.* **1990**, 43, 519.
13. 37th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy **1997**. Toronto, Ontario, Canada, September 28-October 1, Abstract F220.
14. Sendo, Y.; Kil, M.; Motokawa, M.; Kimura, Y. *Chem. Pharm. Bull.* **1992**, 40, 2410.
15. Makoto, S.; Haruki, M.; Takaaki, I.; Masatomo F.; Masuhiro, K. *J. Antibiotic.* **1990**, 43, 14.
16. Yamaji, E.; Watanabe, T.; Nakayama, I. 35th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy **1995**. Sanfrancisco, California, USA, September 17-20, Abstract F141.
17. Pelak, B. A.; Gerckens, L. S.; Scott, P. M.; Gill, C.; Pacholok, C.; Lynch, L.; Dorso, K.; Kohler, J.; Shungu, D.; Rosen, H.; Kroppe, H. 36th Interscience

- Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy **1996**. New Orleans, Louisiana, USA, September 15-18, Abstract F119.
18. Sato, N.; Sasho, M.; Kamada, A.; Suzuki, T.; Ashizawa, K.; Sugiyama, I. 35th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy **1995**. Sanfrancisco, California, USA, September 17-20, Abstract F151.
 19. Azami, H.; Barret, D.; Tanaka, A.; Sasaki, H.; Matsuda, K.; Chiba, T.; Matsumoto, Y.; Morinaga, C.; Ishiguro, K.; Tawara, S.; Sakane, K.; Takasugi, H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 2199.
 20. Azami, H.; Barret, D.; Tanaka, A.; Sasaki, H.; Matsuda, K.; Sakurai, M.; Matsumoto, Y.; Tawara, S.; Chiba, T.; Sakane, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 1409.
 21. Tawara, S.; Matsumoto, S.; Matsumoto, Y.; Ishiguro, K.; Maki, K.; Sasaki, K.; Matsuda, K. 35th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy **1995**. Sanfrancisco, California, USA, September 17-20, Abstract F145.
 22. Arakawa, S.; Kamidono, S.; Inamatsu, T.; Shimada, J. 37th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy **1997**. Toronto, Ontario, Canada, September 28-October 1, Abstract F218.
 23. (a) Miyauchi, M.; Endo, R.; Hisaoka, M.; Yasuda, H.; Kawamoto, I. *J. Antibiotics* **1997**, *50*, 429. (b) Kawamoto, I.; Miyauchi, M.; Endo, R.; Hisaoka, M.; Yasuda, H.; Kuwahara, S. 36th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy **1996**, New Orleans, Louisiana, USA, September 15-18, Abstract F105.
 24. (a) Homura, M.; Tanaka, M.; Ishida, H. *et al.* 35th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy **1995**, Sanfrancisco, California, USA, September 17-20, Abstract F134. (b) Tanaka, M.; Homura, M.; Nishi, T.; Sato, K.; Hayakawa, I. *J. Antimicrob. Agent. Chemother.* **1997**, *41*, 1260.
 25. (a) Lin, Y. I.; Bitha, P.; Sakya, S. M.; Strohmeyer, T. W.; Li, Z.; Lee, V. J.; Lang, S. A., Jr.; Yang, Y.; Bhachech, N.; Weiss, W. J.; Petersen, P. J.; Jacobus, N. V.; Bush, K.; Testa, R. T.; Tallyl, F. P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 1665. (b) Lin, Y. I.; Bitha, P.; Sakya, S. M.; Li, Z.; Strohmeyer, T. W.; Lang, S. A., Jr.; Yang, Y.; Bhachech, N.; Weiss, W. J.; Petersen, P. J.; Jacobus, N. V.; Bush, K.; Testa, R. T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 1671.
 26. Imamura, H.; Ohtake, N.; Shimizu, A.; Ushijima, R.; Nagano, R.; Yamada, K.; Hashizume, T.; Morishima, H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 109.

27. Shin, K. J.; Yoo, K. H.; Kim, D. J.; Park, S. W.; Ko, B. S.; Lee, S. J.; Huh J. D.; Park, S. Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 1607.

여 백

특정연구개발사업 연구결과 활용계획서			
사업명	중사업명	중점국가연구개발사업	
	세부 사업명	생리활성화학물질개발사업	
과제명		광범위 카바페넴 항생제 개발	
연구기관	한국과학기술연구원	연구책임자	김동진
총연구기간		2001년. 08월. 15일. ~ 2003년. 05월. 14일. (21개월)	
총 연구비 (단위 : 천원)	정부출연금	민간부담금	합계
	407,200	330,000	737,200
기술분야			
참여기업		(주) LG생명과학 / (주) 하원제약	
공동연구기관		LG생명과학기술연구원 / 한국화학연구원	
위탁연구기관		연세대학교 의과대학	
연구결과활용 (해당항목에(√) 표시)	1. 기업화 ()	2. 기술이전()	3. 후속연구추진 <input checked="" type="checkbox"/>
	4. 타사업에 활용()	5. 선행 및 기 초연구()	6. 기타목적활용 (교육,연구)()
7. 활용중단(미활용)()			
8. 기타()			
<p>특정연구개발사업 처리규정 제 31조(연구개발결과의 보고) 제 2 항 에 의거 연구결과 활용계획서를 제출합니다.</p> <p>첨부 : 1. 연구결과 활용계획서 1부. 2. 기술요약서 1부</p> <p style="text-align: right;">2003년 6월 일</p> <p style="text-align: right;">연구책임자 : 김 동 진 (인) 연구기관장 : 김 유 승 (직인)</p> <p>과학기술부장관 귀하</p>			

여 백

[첨부1]

연구결과 활용계획서

1. 연구목표 및 내용

본 연구는 중점국가연구개발사업의 2단계 연구로 생리활성물질 개발사업단에 속하여 1단계에서 도출된 카바페넴계 선도물질을 중심으로 2천년대 세계 항생제 시장을 주도할 수 있는 차세대 내성균 감염질환 치료용 항생제 후보물질을 개발하기 위한 연구이며, 본 연구팀의 협동과제는 그람 양성균 및 그람 음성균에 모두 탁월한 효능을 나타내는 주사용 광범위 카바페넴 후보물질을 도출하는 것을 목적으로 하는 과제이다.

본 연구진의 1단계 연구결과 도출된 광범위 카바페넴 선도물질들은 그람음성 간균에 대해서는 imipenem 보다, 그람양성 구균에 대해서는 meropenem보다 우수하였고, dehydropeptidase-I에 대해서도 매우 안정하여 현재 사용 중인 carbapenem 제의 단점이 보완된 약제라고 할 수 있다. 2단계에서는 1단계에서 도출된 광범위용 선도물질인 P91014, P91022에 대하여 병원 분리 호기성과 혐기성 내성균에 대한 *in vitro* 효능연구 및 중, 대동물 (dog, monkey)에서의 혈중반감기, 생체이용율, 최대혈중농도, clearance 등의 약물동력학적 연구를 수행하였다.

또한, 선도물질군의 depth를 증가시키기 위한 우수특성의 후속보완 물질을 합성 및 구조적 최적화연구를 수행하였으며, 합성한 신규 화합물들에 대해서는 *in vitro* 약효검색을 실시하였다.

2. 연구수행결과 현황(연구종료시점까지)

가. 특허(실용신안) 등 자료목록

발명명칭	특허공고번호 출원(등록)번호	공고일자 출원(등록)일자	발명자 (출원인)	출원국	비고
피롤로(1,2-c)이미다졸이중고리를 가지는 1-베타메틸카바페넴 유도 체와 그의 제조방법	01-49334	2001.08.16	조정혁 외	한국	출원
피롤로(1,2-c)이미다졸이중고리를 가지는 1-베타메틸카바페넴 유도 체와 그의 제조방법	01-54467	2001.09.15	조정혁 외	한국	출원
신규 1-베타메틸카바페넴 유도체 및 그의 제조방법	02-345465	2002.07.09	김동진 외	한국	등록
신규 1-베타메틸카바페넴 유도체 및 그의 제조방법	02-345468	2002.07.09	김동진 외	한국	등록
신규 카바페넴 유도체 및 그의 제 조방법	02-6436921	2002.08.20	김동진 외	한국	등록

나. 프로그램 등록목록

프로그램 명칭	등록번호	등록일자	개발자	비고

다. 노하우 내역

라. 발생품 및 시작품 내역

마. 논문게재 및 발표 실적

○ 논문게재 실적(필요시 별지사용)

학술지 명칭	제목	게재 연월일	호	발행기관	국명	SCI게재 여부
Bioorg. Med. Chem. Lett.	Synthesis and Biological Properties of New 1 β -Methylcarbapenems Containing Heteroaromatic Thioether Moiety	2001. 11	11	Pergamon	영국	SCI게재
Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem	Synthesis and Antibacterial Activity of 1 β -Methyl carbapenems Having a 2,2-disubstituted-1,3-Diazabicyclo [3.3.0]-octan-4-one Moiety and Related Compounds. Part III	2002. 04	335	Wiley-VCH	독일	SCI게재
Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem	Synthesis and Antibacterial Activity of 1 β -Methyl-2-(5-substitutedthiazolidinopyrrolidin-3-ylthio)carbapenems and Their Related Compounds	2002. 05	335	Wiley-VCH	독일	SCI게재
Eur. J. Med. Chem	Synthesis and Antibacterial Activity of 1 β -Methyl-2-(5-substituted thiazolopyrrolidin-3-ylthio)carbapenem Derivatives	2002. 09	37	Elsevier Science	유럽	SCI게재
Bioorg. Med. Chem. Lett.	Synthesis and Biological Evaluation of Novel 1 β -Methylcarbapenems with Isothiazoloethenyl Side Chains	2003	13	Pergamon	영국	SCI게재
Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem	Synthesis and Antibacterial Activities of 4-Pyrrolidinylthio Carbapenems: Containing Hetero- aromatics as a Side Chain.	2003	336	Wiley-VCH	독일	SCI게재
Eur. J. Med. Chem	Synthesis and Antibacterial Activity of 1 β -Methyl-2-(5- Substituted-2-hydroxy-iminoethyl)pyrrolidin-3-ylthio)-carbapenem Derivatives	2003	38	Elsevier Science	유럽	SCI게재
Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem	Synthesis and Antibacterial Activity of 1 β -Methyl-2-(5- substituted oxadiazolopyrrolidin-3-ylthio)carbapenem Derivatives	2003	336	Wiley-VCH	독일	SCI게재
Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem	Synthesis and Antibacterial Activity of 1 β -Methyl-2-(5-substituted imidazolopyrrolidin-3-ylthio)carbapenem Derivatives	2003	336	Wiley-VCH	독일	SCI게재
Eur. J. Med. Chem	Synthesis and Biological Activity of 1 β -Methyl 2-[5-(2-N- Substituted aminoethylcarbamoyl)pyrrolidin-3-ylthio]carbapenem Derivatives	2003. 02 Submitted		Elsevier Science	유럽	SCI게재
계: 10 건수						

○ 학술회의 발표 실적(필요시 별지사용)

학술회의명칭	제목	게재연월일	호	발행기관	국명
88차 대한화학회 추계학술대회	Synthesis and Biological Activity of 1 β -Methylcarbapenems Containing Isoxazole Moiety	2001.10.19		대한화학회	한국 부경대학교
88차 대한화학회 추계학술대회	Synthesis of 5-(5-Isoxazolopyrrolidinyl-3-yl)thiol Derivatives via 1,3-Dipolar Cycloaddition Reaction for 1 β -Methyl-carbapenems	2001.10.19		대한화학회	한국 부경대학교
88차 대한화학회 추계학술대회	Studies on the Synthesis and Antibacterial Activities of 1 β -methyl-2-[(5-(substituted thiazole) pyrrolidine-3-ylthio]Carbarpenem Derivative	2001.10.19		대한화학회	한국 부경대학교
88차 대한화학회 추계학술대회	Studies on the Synthesis and Antibacterial Activities of 1 β -methyl-2-[(5-(Heterocyclic substituted)pyrrolidine-3-ylthio]Carbarpenem Derivatives	2001.10.19		대한화학회	한국 부경대학교
88차 대한화학회 추계학술대회	Synthesis and Biological Activity of 1 β -methyl-2-[(5-(substituted oxadiazole)-pyrrolidine-3-ylthio]Carbarpenem Derivatives	2001.10.19		대한화학회	한국 부경대학교
88차 대한화학회 추계학술대회	Synthesis and Biological Activity of 1 β -methyl-2-[(5-(substituted diazabicyclo)-pyrrolidine-3-ylthio]Carbarpenem Derivatives	2001.10.19		대한화학회	한국 부경대학교
02' 대한약학회 춘계학술대회	Studies on the Synthesis and Antibacterial Activities of 4-Pyrrolidinylthio Carbapenems: 2-Alkyl Substituents Containing Heteroaromatics Linked Via a C-N Bond	2002.04.19		대한약학회	한국 충북대학교
90차 대한화학회 추계학술대회	Studies on the Synthesis and Antibacterial Activities of 1 β -methyl-2-[5-(substitued [1,2,4]oxdiazole)pyrroidine-4-ylthio]carbarpenem	2002.10.19		대한화학회	한국 영남대학교
90차 대한화학회 추계학술대회	Studies on the Synthesis and Antibacterial Activities of 1 β -methyl-2-[(N'-substitued- N-hydroxyacetamidinyl)-pyrroidine-4-ylthio]Carbarpenem Derivatives	2002.10.19		대한화학회	한국 영남대학교
계: 9건수					

3. 연구성과

1) 광범위용 후속 보완물질 합성

- P91014와 유사한 구조변환으로 유기산, 아미딘, 옥심 등의 관능기를 갖는 30여종의 신규 카바페넴 합성
- 이중 우수한 효능을 나타내는 6종의 선도물질을 도출하였으며 미세 구조변환으로 효능증대 연구 수행 중

2) 광범위용 신규 카바페넴 합성

- 피롤리딘의 측쇄의 시아노기를 옥심으로 변환하거나 메실기를 오원환의 이환고리로 치환하여 15종의 신규 카바페넴 합성
- 피롤리딘측쇄에 옥심기가 도입된 우레아형의 카바페넴유도체를 십여종 합성하였고 그 외에도 유사한 우레아형의 카바페넴 유도체를 십여종 합성하여 MIC 시험 실시

3) P91014, P91409 및 P91022의 효능연구

- 호기성 그람양성 균주 중 *E. faecium*을 제외한 모든 균주에서 시험한 카바페넴이 모두 내성율 0%의 매우 우수한 효능을 나타내었음
- 호기성 그람양성 균주에 대한 효능의 서열은 $IPM^1 > P91014 = P91409 > P91022 > MPM^2 > EPM^3$ 이었음
- 호기성 그람양성 균주 중 호흡기감염의 중요 균주인 *S. pneumoniae*에 대해서는 P91022가 비교 약물에 비해 가장 우수한 효능을 나타냄
- 호기성 그람음성 균주 중 *A. baumannii*와 *P. aeruginosa*를 제외한 모든 균주에서 시험한 카바페넴이 대부분 내성율 0%의 매우 우수한 효능을 나타내었음
- 호기성 그람음성 균주에 대한 효능의 서열은 $MPM > P91022 > P91014 > EPM > 91409 > IPM$ 이었음
- 호기성 그람음성 균주 중 원내감염의 가장 중요 균주인 *P. aeruginosa*에 대한 내성율은 MPM 11.7%로 가장 우수하며 IPM 18.3%, P91022 20%, P91014 50%, P91409 50%, EPM 68.3%의 순이었음
- 혐기성 그람양성 및 그람음성 균주에서는 시험한 카바페넴이 모두 내성율 0%의 매우 우수한 효능을 나타내었음
- 상기의 결과를 종합하여 볼 때, 시판 카바페넴에 비하여 P91022가 중요 균주를 포함한 그람양성 및 그람음성균 모두에 대하여 가장 균형있는 효능을 나타냄

* IPM^1 : Imipenem, MPM^2 : Meropenem, EPM^3 : Ertapenem

4) P91409 및 P91022의 약물동력학 연구

- P91409의 경우 rat에서는 MPM에 비해 반감기는 6배, 생체이용율은 5배 우수한 값을 나타내며, dog에서는 오차범위 내에서 MPM에 비하여 다소 열등한 값을 나타냄.
- P91022의 rat에서의 약물동태연구를 수행하였음.

5) P91022 및 P21027의 구조변환

- P91022의 올레핀기를 히드록시에틸기로 구조변환한 P22011을 합성하였으며 이는 탁월한 활성과 DHP-1에 대한 안정성을 나타내었음
- P21027의 이소옥사졸을 이소옥사졸린으로 구조변환하여 ESBL G(-)와 MDR G(-) 등 그람음성 내성균에 탁월한 효능을 나타내는 선도물질 P22007, P22010 등을 도출하였음

이와 같은 연구결과로 3건의 국내특허를 등록하였으며 2건의 국내특허를 출원하였으며, 9편의 논문을 외국 전문학술지에 게재하였고, 1편을 응모 중에 있음.

4. 기술이전 및 연구결과 활용계획

가. 당해연도 활용계획

나. 활용방법

다. 차년도이후 활용계획

5. 기대효과

- 다양한 계열의 1 β -메틸카바페넴계 화합물을 합성하여 약효검색을 수행한 결과 1 β -메틸카바페넴계 화합물의 구조-활성 상관관계를 이해하는데 중요한 자료를 제공하였다.
- 산. 학. 연의 연구체계를 활성화하여 국내 항생제의 약효 및 독성평가 기술을 제고하였으며, 이와 같은 생물학적 시험결과를 종합적으로 분석하여 분자설계 및 구조변경 연구에 효율적으로 feed-back할 수 있는 체계를 구축하였다.

- 차세대 주사제 카바페넴 항생제가 지향하여야 할 방향을 제시하였으며, 특히 4세대 형태의 카바페넴 화합물을 분리, 정제, 분석하는 많은 know-how를 축적하였다.
- 카바페넴 항생제를 합성하기 위한 새로운 합성방법, 특히 PNZ 또는 PNB 등의 보호기를 제거하는 새로운 방법을 개발하여 보다 다양한 카바페넴 화합물을 합성할 수 있는 방법을 제공하였다.
- 본 연구의 결과로 도출된 후보물질 및 선도물질에 대한 전임상 시험을 진행할 경우, 병원 임상균주에 대한 *in vitro* 활성시험 및 *in vivo* 치료효과 연구등, 항생제 연구에서의 국내 종합병원과의 공동연구의 활성화에 에 큰 기여를 할 것이다.
- 이와 같은 점을 종합하여 볼 때, 국내 신규카바페넴 항생제 개발에 대한 관심을 제고하였으며, 화학, 약학, 생물학, 의약 등 신약개발 관련 과학자 들의 공동연구의 보다 체계적인 활성화에 지대한 기여를 하였다고 사료된다.

6. 문제점 및 건의사항(연구성과의 제고를 위한 제도·규정 및 연구관리 등의 개선점을 기재)

여 백

[첨부2]

기술 요약서

■ 기술의 명칭

광범위 신규 카바페넴 항생제에 대한 합성방법, SAR을 통한 구조적 최적화 및 약효검색, 약물동력학 연구를 통한 카바페넴 항생제 신약개발 기술

■ 기술을 도출한 과제현황

과제관리번호	M-0112-00-0015			
과제명	광범위 카바페넴 항생제 개발			
사업명	중점국가연구개발사업			
세부사업명	생리활성화합물질개발사업			
연구기관	한국과학기술연구원	기관유형	정부출연연구소	
참여기관(기업)	(주) LGCI / (주) 하원제약			
총연구기간	2년			
총연구비	정부(407,200)천원	민간(330,000)천원	합계(737,200)천원	
연구책임자 1	성명	김 동 진	주민번호	
	근무기관 부서	한국과학기술연구원 생체과학연구부	E-mail	djk2991@kist.re.kr
	직위/직급	책임연구원	전화번호	02-958-5142
연구책임자 2	성명		주민번호	
	근무기관 부서		E-mail	
	직위/직급		전화번호	
실무연락책임자	성명	유 경 호	소속/부서	한국과학기술연구원 생체과학연구부
	직위/직급	선임연구원	E-mail	khyoo@kist.re.kr
	전화번호	02-958-5152	FAX	02-958-5189
	주소	(136-791) 서울특별시 성북구 하월곡동 39-1		

■ 기술의 주요내용

[기술의 개요]

현재 제품화된 카바페넴 항생제는 이미페넴, 파니페넴, 메로페넴으로서 각각 효능 및 약리, 독성 등에서 취약점을 갖고 있다. 본 기술의 대상이 되는 광범위 카바페넴의 경우 이를 보완한 새로운 카바페넴으로서, 이에 대한 분자설계, 합성방법 개발, 약효검색, SAR을 통한 구조적 최적화, 약물동력학적 연구 및 선도물질에 대한 후속 보완물질 합성 등을 포함한다.

본 기술을 자세히 설명하면 카바페넴의 핵심적인 골격구조를 위주로 화학적인 구조변환을 통한 분자설계, 용이한 합성방법 및 분리정제 기술, in vitro, in vivo 약효검색 기술, 구조-약효 상관관계를 이용한 구조적 최적화 화합물 설계 및 합성, 혈중반감기, 생체이용율, 최대혈중농도, clearance 등을 포함하는 약물동력학적 연구, 선도물질군의 depth를 증가시키기 위한 우수특성의 후속보완 물질 합성 등을 통한 카바페넴 항생제 신약을 개발한다.

<기술적 특징>

- (1) 광범위 카바페넴 항생제 분자설계 및 합성기술
- (2) 약효검색 및 SAR을 통한 구조적 최적화 기술
- (3) 약물동력학적 연구 및 선도물질에 대한 후속 보완물질 합성 기술

[용도 · 이용분야]

- (1) 카바페넴 항생제 합성 및 선도물질 발굴, 최적화
- (2) 카바페넴을 포함한 항생제 연구추진방법 제공
- (3) 기타 유사 의약품 개발에 활용

■ 기술의 분류

[기술코드] 351 (3 Digit) (KISTEP 홈페이지 기술요약서용 기술분류표 참조)

[기술분야] (1개만 선택(✓로 표시)하여 주십시오)

- | | | | | |
|-------------------------------|--------------------------------|------------------------------|----------------------------------|--|
| <input type="checkbox"/> 정보산업 | <input type="checkbox"/> 기계설비 | <input type="checkbox"/> 소재 | <input type="checkbox"/> 정밀화학·공정 | <input checked="" type="checkbox"/> 생명과학 |
| <input type="checkbox"/> 원자력 | <input type="checkbox"/> 자원 | <input type="checkbox"/> 에너지 | <input type="checkbox"/> 항공·우주 | <input type="checkbox"/> 해양 |
| <input type="checkbox"/> 교통 | <input type="checkbox"/> 보건·의료 | <input type="checkbox"/> 환경 | <input type="checkbox"/> 기초·원천 | <input type="checkbox"/> 기타 |

■ 기술이전 조건

이전형태	<input checked="" type="checkbox"/> 유상 <input type="checkbox"/> 무상	최저기술료	천원
이전방식	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input checked="" type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전 소요기간	년 개월	실용화예상시기	2010 년도
기술이전시 선행요건			

* 기술이전시 선행요건 : 기술이전을 위한 사전준비사항(필수 설비 및 장비, 전문가 확보 등)을 기술

* 실용화예상시기 : 기술을 활용한 대표적인 제품이 최초로 생산이 시작되는 시기를 기재

■ 기술의 개발단계 및 수준

[기술의 완성도] (1개씩 선택(√로 표시)하여 주십시오)

	① 기초, 탐색연구단계 : 특정용도를 위해 필요한 신 지식을 얻거나 기술적 가능성을 탐색하는 단계
√	② 응용연구단계 : 기술적 가능성의 실증, 잠재적 실용화 가능성의 입증 등 실험실적 확인 단계
	③ 개발연구단계 : Prototype의 제작, Pilot Plant Test 등을 행하는 단계
	④ 기업화 준비단계 : 기업화에 필요한 양산화 기술 및 주변 기술까지도 확보하는 단계
	⑤ 상품화 완료단계

[기술의 수명주기] (1개씩 선택(√로 표시)하여 주십시오)

	① 기술개념 정립기 : 기술의 잠재적 가능성만 있는 단계
	② 기술실험기 : 기술개발에 성공했으나 아직 실용성, 경제성 등이 확실치 않은 단계
	③ 기술적용 시작기: 최초의 기술개발국에서만 활용되고 있는 단계
	④ 기술적용 성장기: 기술개발국 및 일부 선진국에서 활용되고 있는단계
√	⑤ 기술적용 성숙기: 선진국사이에서 활발한 기술이전이 일어나며, 기술의 표준화가 되어가는 단계
	⑥ 기술적용 쇠퇴기: 선진국에서 개도국으로 기술이전이 활발하게 일어나고, 선진국에서는 기술의 가치가 저하되나, 개도국에서는 아직 시장의 가치가 높은 기술

[기술발전 과정상의 기술수준] (1개항 선택(√호 표시)하여 주십시오)

	① 외국기술의 모방단계 : 이미 외국에서 개발된 기술의 복제, reverse Eng.
	② 외국기술의 소화·흡수단계 : 국내시장구조나 특성에 적합하게 적응시킴
√	③ 외국기술의 개선·개량단계 : 성능이나 기능을 개선시킴
	④ 신기술의 혁신·발명단계 : 국내 최초로 개발

■ 본 기술과 관련하여 추가로 확보되었거나 개발중인 기술

[기술개요]

기술명	
개발단계	<input type="checkbox"/> 연구개발 계획 <input type="checkbox"/> 연구개발 중 <input type="checkbox"/> 연구개발 완료
기술개요	

[기술을 도출한 과제현황]

과제관리번호			
과제명			
사업명			
세부사업명			
연구기관		기관유형	
참여기관(기업)			
총연구기간			
총연구비	합계 : ()백만원 - 정부 : ()백만원 민간 : ()백만원		
연구책임자	소속		성명
	전화번호		E-mail
연구개발 주요내용			